

Recenzja

Rozprawy doktorskiej lek. med. Grzegorza Łapucia na temat „Ekspresja wybranych genów w różnych typach histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca”

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Wiesława Ewa Niklińska

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. Radosław Charkiewicz

Przedstawiona do oceny praca ma charakter monografii i typowy dla rozprawy doktorskiej układ. Składa się z 80 stron maszynopisu w tym: wstępu, celu pracy, materiału i metody, wyników, dyskusji i wniosków wraz z wykazem skrótów i akronimów stanowiącym użyteczny dla czytelnika odnośnik do tekstu. W swojej pracy autor powołał się 177 pozycji piśmiennictwa oraz dołączył dokumentację graficzną uzyskanych wyników w postaci 9 rycin i 14 tabel. Do pracy dołączone jest streszczenie w języku polskim i angielskim. Praca spełnia wszystkie wymogi formalne rozprawy doktorskiej.

Doktorant w swojej pracy podejmuje bardzo istotny i aktualny z punktu widzenia onkologicznego temat pogłębionej diagnostyki molekularnej raka płuca, a w szczególności oceny ekspresji wyselekcjonowanych genów na poziomie mRNA w różnicowaniu raka płaskonabłonkowego i gruczołowego płuc.

Rak płuca jest nadal nowotworem odpowiedzialnym za największą liczbę zgonów związanych z chorobami nowotworowymi w Polsce jak i na świecie, zarówno wśród mężczyzn jak i kobiet. Rocznie z powodu raka płuc, z których ponad 80% stanowi grupa raków niedrobnokomórkowych płuca, umiera ponad 1 milion osób na całym świecie. Głównymi czynnikami wpływającymi na tak złe wyniki leczenia tego nowotworu to przede wszystkim znacznie opóźniona diagnostyka wynikająca ze skąpoobjawowego przebiegu choroby w jej wczesnym etapie zaawansowania. Mimo podejmowania wielu wysiłków nadal ok. 80% chorych w momencie postawienia diagnozy jest w regionalnie zaawansowanym stadium choroby czy wręcz w stopniu uogólnionym. Na tym etapie zaawansowania choroby nowotworowej płuc podstawowym sposobem leczenia jest leczenie systemowe. Współcześnie nie ogranicza się ono jedynie do zastosowania tradycyjnej chemioterapii lecz w oparciu o dokładną diagnostykę immunohistochemiczną i dalej pogłębioną o badania molekularne pozwala na zastosowanie szeregu nowoczesnych terapii celowanych. Są one możliwie w przypadku rozpoznania raka gruczołowego płuca. Jak słusznie autor podkreśla nie zawsze jest możliwe rozróżnienie między rakiem płaskonabłonkowym a gruczołowym płuca na podstawie wyników rutynowo wykonywanych badań immunohistochemicznych. Stąd tak ważnym jest poszukiwanie dodatkowych biomarkerów molekularnych

pozwalających na precyzyjne różnicowanie raka płaskonabłonkowego i gruczołowego płuca co stanowi treść recenzowanej rozprawy doktorskiej.

We wstępie pracy Doktorant wyczerpująco omówił: epidemiologia raka płuca w Polsce i na świecie, jego etiopatogeneza wraz z molekularnymi mechanizmami nowotworzenia, podział patologiczny raka płuca wraz z klasyfikacją TNM. Szeroko przedstawiono współcześnie stosowane metody leczenia raka płuca w zależności od stopnia zaawansowania choroby.

W osobnym podrozdziale przedstawiono metody diagnostyki różnicowej podtypów niedrobnokomórkowego raka płuca i ich znaczenia w kwalifikacji do terapii spersonalizowanej. Szeroko omówiono czynniki molekularne jako potencjalne markery różnicujące oraz wyjaśniono skąd wybór genów, których ekspresję badano w materiale stanowiącym podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej.

W swojej pracy autor postawił sobie cztery ambitne i jasno sprecyzowane cele:

1. Analiza ekspresji wyselekcjonowanych genów (KRT5, KRT6A, PPKNEFD, DSG3, SERPINB5 i MIR205HG) na poziomie mRNA w guzach pierwotnych u chorych we wczesnych stadiach zaawansowania NDRP z wykorzystaniem techniki PCR w czasie rzeczywistym.
2. Badanie zależności pomiędzy ekspresją wyselekcjonowanych genów, a parametrami klinicznymi i patologicznymi takimi jak: wiek, płeć, typ histologiczny NDRP, status regionalnych węzłów chłonnych, stopień zaawansowania nowotworu wg klasyfikacji TNM.
3. Ocena znaczenia poziomów ekspresji wyselekcjonowanych genów w aspekcie różnicowania podtypów NDRP.
4. Opracowanie testu molekularnego różnicującego podtypy histologiczne NDRP oraz ocena jego przydatności jako dodatkowego narzędzia diagnostycznego.

Po uzyskaniu akceptacji Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku nr: R-I-002/299/2017 pobrano materiał tkankowy od 140 chorych operowanych w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej UMB w latach 2000-2009 w stadium zaawansowania TNM od I do IIIA. Analiza ekspresji 6-ciu wyselekcjonowanych genów składała się z następujących etapów: oceny mikroskopowej fragmentów tkanek nowotworowych NDRP, izolacji całkowitego RNA z zabezpieczonych świeżo mrożonych tkanek guza, oceny stężenia, czystości i jakości roztworów RNA, uruchomieniu reakcji odwrotnej transkrypcji, wykonaniu reakcji PCR w czasie rzeczywistym, normalizacji uzyskanych surowych wyników analiz i oceny znormalizowanych wartości ekspresji genów.

Uzyskane przez Doktoranta wyniki znalazły odzwierciedlenie w czterech szczegółowych wnioskach, w których autor stwierdza: znamienne wyższy poziom ekspresji wybranych genów (KRT5, KRT6A, PPKNEFD, DSG3, SERPINB5 i MIR205HG) w raku płaskonabłonkowym płuca niż w raku gruczołowym; brak korelacji ekspresji wybranych genów z wybranymi czynnikami kliniczno-patologicznymi, wartość względnego poziomu ekspresji genu DSG3 jako wystarczającego niezależnego parametru różnicującego raka płaskonabłonkowego i gruczołowego mogącego być nowym, obiecującym biomarkerem w

diagnostyce różnicującej podtypy histologiczne NDRP oraz przydatność ekspresji wybranych genów (KRT5, KRT6A, PPKNEFD, DSG3, SERPINB5 i MIR205HG) w kwalifikacji chorych do terapii spersonalizowanej.

Dyskusja jest bardzo interesująca i przeprowadzona rzeczowo. Autor konfrontuje uzyskane przez siebie wyniki z danymi opublikowanymi w aktualnym, prawidłowo dobranym piśmiennictwie. Jakość przeprowadzonej dyskusji świadczy o szerokiej wiedzy doktoranta i bardzo dobrej umiejętności prowadzenia dyskusji naukowej.

Pracę przeczytałem z dużym zainteresowaniem i oceniam bardzo wysoko. Dla mnie osobiście jako klinicysty i torakochirurga znacząco poszerzyła moją wiedzę w zakresie kierunku prowadzonych badań molekularnych nad niedrobnokomórkowym rakiem płuca w celu poprawy diagnostyki i wyników leczenia. Nasuwa mi się tylko jedno pytanie do Doktoranta w kontekście uzyskanych wyników, a zwłaszcza stwierdzenia znaczenia ekspresji genu DSG3, mianowicie jak ocenia szanse praktycznego zastosowania tego biomarkera w najbliższej przyszłości?

Jeżeli chodzi o stronę edytorską to oceniam pracę bardzo wysoko zarówno ze względu na jej jasny i logiczny układ jak i staranność edytorską i poprawność językową. Mam jedynie dwie drobne uwagi, które moim zdaniem ułatwiłyby czytającemu analizę uzyskanych wyników. Po pierwsze w tabeli 10 pokazującej rozkład typów histologicznych raka płuc według płci w badanym materiale, umieszczone wartości procentowe w nawiasach byłyby bardziej jasne gdyby odnosiły się w 100% osobno dla mężczyzn i osobno dla kobiet. Po drugie Doktorant przedstawiając w tabeli 13 i na wykresach (Ryc.7) zależność pomiędzy ekspresją badanych genów a podtypami histologicznymi raka płuca jedynie w opisie ryciny zaznacza, że przedstawione w tabeli i na wykresie wartości ΔCt są odwrotnie proporcjonalne do poziomu ekspresji poszczególnych genów. Zamieszczenie tej ważnej informacji na początku akapitu omawiającego wyniki znacznie ułatwi czytającemu ich interpretację szczególnie dla osób nie stykających się na co dzień z tą metodologią badań. Powyższe uwagi w żaden sposób nie obniżają wartości merytorycznej pracy, a mogą być przydatne w przygotowaniach do jej publikacji.

Podsumowując oceniam pracę bardzo pozytywnie i stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. med. Grzegorza Łapucia pt. „Ekspresja wybranych genów w różnych typach histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca” spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim w tym warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017r., poz. 1789) oraz art.179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.).

W związku z powyższym wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. med. Grzegorza Łapucia do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. med. Cezary Piwkowski, Prof. UMP

