

Dziekanat  
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego

wpłynęło dn. 23. 11. 2016

Lublin, 14-11-2016

podpis  l.dz. 2460

## Recenzja

### **rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarza Ryszarda Kujawskiego pt. „Znaczenie prognostyczne krążących komórek nowotworowych w raku jelita grubego”.**

Rak jelita grubego jest najczęstszym nowotworem złośliwym przewodu pokarmowego i należy do najczęstszych przyczyn zgonów nowotworowych na świecie, w szczególności w krajach należących do tzw. cywilizacji zachodniej. Prawie 60% zachorowań występuje w krajach rozwiniętych. W Polsce rak jelita grubego wśród nowotworów złośliwych pod względem zapadalności zajmuje drugą pozycję, a od 1980 roku nastąpił prawie 4-krotny wzrost liczby zachorowań u mężczyzn i około 3-krotny u kobiet. Zasadniczym sposobem leczenia raka jelita grubego jest zabieg chirurgiczny. Odcinkowa resekcja odpowiedniego do lokalizacji raka odcinka jelita grubego z adekwatnym zakresem usunięcia układu chłonnego zapewnia miejscową i regionalną radykalność onkologiczną. Pomimo uzyskania doszczędności onkologicznej u znacznej części chorych dochodzi do wznowy raka w postaci przerzutów odległych. Ich źródłem mogą być mikroprzerzuty w pozaregionalnym układzie chłonnym, komórki nowotworowe obecne w szpiku kostnym lub krążące komórki nowotworowe wykrywane zaawansowanymi technikami diagnostyki molekularnej lub genetycznej. Krążące komórki nowotworowe stanowią komórki obecne we krwi obwodowej o specyficznym dla danego nowotworu profilu antygenowo-genetycznym. Znaczenie kliniczne tych komórek nie zostało do końca określone. Mogą one być źródłem niepowodzenia terapeutycznego, wskazywać na konieczność uzupełnienia leczenia operacyjnego o chemioterapię adjuwantową, mogą być celem monitorowania efektywności różnych schematów leczenia przeciwnowotworowego przyczyniając się do rozwoju terapii spersonalizowanej. W tym świetle znaczenie podjętej przez Doktoranta tematyki wpisuje się w nurt aktualnych dociekań naukowych z potencjalnym praktycznym wykorzystaniem wyników do poprawy skuteczności postępowania w raku jelita grubego w przyszłości.

Rozprawa została przygotowana w sposób typowy. Składa się z następujących części: rozdział wprowadzający o raku jelita grubego, cel pracy, materiał, metodyka badań, wyniki badań, dyskusja, wnioski, streszczenie, spis skrótów, literatura, spis tabel i rycin. Przedstawiona do recenzji praca liczy 93 strony, została bogato zilustrowana za pomocą 35 tabel i 6 rycin umieszczonych w tekście pracy, co umożliwia zapoznanie się z danymi na

bieżący w trakcie czytania tekstu. Piśmiennictwo zawiera 128 pozycji w pełni zacytowanych w tekście i ułożonych w kolejności cytowania.

We wprowadzeniu liczącym 26 stron Autor w sposób wszechstronny i spójny przedstawia aktualne dane dotyczące raka jelita grubego w zakresie epidemiologii, etiologii, patogenezы, diagnostyki z uwzględnieniem badań endoskopowych, obrazowych, laboratoryjnych i histopatologicznych oraz klasyfikacji makroskopowej, histopatologicznej i stopnia zaawansowania. W ostatniej fazie części wprowadzającej rozprawy Doktorant rozwija dotychczasowy stan wiedzy na temat krążących komórek nowotworowych, możliwości ich izolacji oraz znaczenia klinicznego z uwzględnieniem dotychczas przeprowadzonych badań w zakresie raka jelita grubego. Zaprezentowane we wstępie informacje o istotnej wartości poznawczej wyczerpująco wprowadzają czytelnika w problematykę pracy badawczej i świadczą o dobrym przygotowaniu teoretycznym lekarza Ryszarda Kujawskiego.

Analiza dotychczasowych badań nad znaczeniem krążących komórek nowotworowych w raku jelita grubego pozwoliła na sformułowanie Doktorantowi następujących celów badawczych: oceny możliwości wykorzystania oznaczania ekspresji genów cytokeratyny 20, receptora naskórkowego czynnika wzrostu i plastyny 3 do wykrywania obecności komórek nowotworowych we krwi obwodowej u chorych z rakiem jelita grubego; oceny zależności pomiędzy ekspresją wspomnianych genów w krążących komórkach nowotworowych a klasycznymi czynnikami rokowniczymi raka jelita grubego oraz oceny znaczenia ekspresji wspomnianych genów jako czynników prognostycznych. Cele rozprawy są precyzyjne, bezpośrednio związane z tematem pracy i wyznaczają kolejne etapy realizowanego projektu.

Badania wykonano u 85 chorych, u których rozpoznano i potwierdzono w badaniu histopatologicznym raka jelita grubego. Nieliczna grupa kontrolna obejmowała 6 chorych hospitalizowanych z powodu przepukliny brzusznej (1 chory), uchyłkowatości okrężnicy (3 chorych) lub polipów okrężnicy i odbytnicy (2 chorych). Materiał badawczy jest wystarczający i dobrze dobrany. Metoda badawcza obejmująca zaawansowane techniki izolacji komórek nowotworowych, izolacji materiału genetycznego i oceny poziomu ekspresji genów cytokeratyny 20, receptora naskórkowego czynnika wzrostu i plastyny 3 została opisana wyczerpująco z niezbędnymi szczegółami technicznymi. Wiarygodności badaniom dodają dobrze zaplanowane i prawidłowo przeprowadzone metody statystyczne.

Wyniki badań są dobrze opracowane i udokumentowane, obejmują najbardziej obszerną część rozprawy mieszcząc się na 30 stronach z podziałem na 5 podrozdziałów, mających ścisły związek z celami, w których Doktorant w sposób bardzo szczegółowy, z

wykorzystaniem 30 tabel i 21 wykresów przedstawia wyniki swoich badań. Prezentacja wyników w układzie tabelarycznym i graficznym pozwala uporządkować zebrane dane i przedstawić je w sposób przejrzysty. Przedstawiona analiza uzyskanych wyników jest dokładna i merytoryczna. Dodatkowym ułatwieniem byłoby uzupełnienie prezentacji wyników w postaci bezwzględnych wartości liczbowych wartościami procentowymi. Podobnie wymagałoby sprecyzowania jaką ocenę stopnia zaawansowania raka: kliniczną czy patologiczną, Doktorant stosuje w analizie ekspresji badanych genów. Przed analizą ekspresji badanych genów zabrakło mi jako punktu odniesienia danych liczbowych dotyczących krążących komórek nowotworowych. Niezwykle ciekawe wyniki dotyczą chorych z rakiem ograniczonym naciekaniem do warstwy mięśniowej właściwej T2, bez przerzutów do układu chłonnego N0 i bez przerzutów odległych M0. Są to bowiem pacjenci, którzy po uzyskaniu resekcji makroskopowo i mikroskopowo radykalnej nie są kwalifikowani do leczenia uzupełniającego. Badania Doktoranta wykazały ekspresję genu cytokeratyny 20 odpowiednio u 32% (T2), 30% (N0) i 36% (M0) chorych. Ekspresję genu receptora naskórkowego czynnika wzrostu stwierdzono odpowiednio u 26% (T2), 20% (N0) i 26% (M0) chorych. Natomiast ekspresję genu plastyny 3 potwierdzono u 16% chorych z rakiem T2, u 15% chorych bez przerzutów węzłowych (N0) i u 26% chorych bez przerzutów odległych (M0). Wyniki tych pogłębionych badań molekularnych i genetycznych przedstawione przez lekarza Ryszarda Kujawskiego sugerują, że onkologicznie doszczętny zabieg resekcyjny u 15-36% chorych nie zapewnił adekwatnego leczenia ze względu na obecność krążących komórek nowotworowych.

Następna część rozprawy w postaci Dyskusji stanowi zwięzły, liczący 5 stron rozdział świadczący o merytorycznym i praktycznym przygotowaniu Doktoranta. Analiza otrzymanych wyników przeprowadzona przez Autora w oparciu o dane z piśmiennictwa świadczy o dobrej znajomości zagadnienia, umiejętnej i krytycznej interpretacji własnych obserwacji w odniesieniu do dotychczas przeprowadzonych badań. Piśmiennictwo obejmuje publikacje od lat zakorzenione w tematyce, ale również najbardziej aktualne, bowiem 34 ze 128 cytowanych pozycji ukazała się w ostatnim pięcioleciu. Literatura zawiera pozycje głównie angielskie, ale również 10 prac polskich.

Rozprawę kończą wnioski, które odpowiadają na postawione w celu pytania: oznaczanie ekspresji genów cytokeratyny 20, receptora naskórkowego czynnika wzrostu i plastyny 3 okazało się metodą o ograniczonej czułości i specyficzności dla wykrywania komórek nowotworowych we krwi obwodowej u chorych z rakiem jelita grubego, ekspresja wszystkich badanych genów pozostaje w korelacji z klasycznymi czynnikami rokowniczymi, zaś ekspresja genu receptora naskórkowego czynnika wzrostu i plastyny 3 w krążących

komórkach nowotworowych u chorych z rakiem jelita grubego jest negatywnym czynnikiem prognostycznym związanym ze skróceniem przeżycia wolnego od nawrotu choroby.

Podczas pisania tak obszernej pracy jest rzeczą niemożliwą ustrzec się drobnych błędów. Podczas przygotowania pracy do publikacji proponuję dokonać ponownej korekty redakcyjnej w celu wyeliminowania kilku pomyłek literowych, ujednoczenia stosowania oznaczenia antygenu węglowodanowego 19-9, współczynnika istotności statystycznej oraz formatu pozycji piśmiennictwa. Te drobne niedociągnięcia i moje wcześniejsze uwagi nie umniejszają wartości pracy. Rozprawę w całości należy ocenić bardzo pozytywnie. Praca ma wartość poznawczą, praktyczną i naukową. Dotyka ważnych mechanizmów leżących u podłoża postępu raka jelita grubego, których zrozumienie może przyczynić się do modyfikacji dotychczasowego postępowania i poprawy wyników leczenia. Rozprawa została przygotowana z dużą starannością i wszechstronną znajomością tematu, przy logicznym uporządkowaniu informacji i zachowaniu proporcji pomiędzy poszczególnymi rozdziałami. Lekarz Ryszard Kujawski wykazał się doskonałym przygotowaniem teoretycznym, dojrzałym i krytycznym sposobem myślenia oraz umiejętnością poprawnej interpretacji uzyskanych wyników. Godnym podkreślenia jest fakt, że Doktorant będąc klinicystą pracującym na oddziale zabiegowym nie zamyka się w kręgu dotychczas ustalonych schematów, lecz wykazuje chęć poszukiwania i poszerzania horyzontów, starając się pogłębić zrozumienie mechanizmów leżących u podłoża schorzenia znajdującego się w zakresie codziennych zainteresowań klinicznych.

Podsumowując, pragnę potwierdzić, że przedstawiona mi do recenzji praca zatytułowana: „Znaczenie prognostyczne krążących komórek nowotworowych w raku jelita grubego” w pełni odpowiada ustawowym wymogom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk medycznych. Zatem z pełnym przekonaniem przedkładam Panu Dziekanowi i Wysokiej Radzie Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. med. Ryszarda Kujawskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

z wyrazami szacunku

Dr hab. n. med.  
Tomasz Skoczyła  
Specjalista Chirurgii Ogólnej  
8058974

Dr hab. med. Tomasz Skoczyła