UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra i Zakład Patomorfologii i Cytologii Onkologicznej
Ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław
Tel.: (71) 7343960; Fax.: (71) 7343968
dr hab. n. med. Agnieszka Hałoń, prof. nadzw.

PAN - Instytut Immunologii
Wpł. dnia 11-05-2016
dla 204/16

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ mgr inż. EWY MAJ z Laboratorium Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej INSTYTUTU IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ PAN we Wrocławiu pt. „Mechanizm regulujący współdziałanie analogu witaminy D w łącznym stosowaniu z cytostatykami i inhibitorami kinaz tyrozynowych w modelu niedrobnokomórkowego raka płuca"

I. Temat pracy i zidentyfikowanie zadania badawczego

Niemal każda publikacja dotycząca raka płuca rozpoczyna się złymi informacjami na temat wciąż rosnącej częstości jego występowania, zbyt późnego rozpoznawania i bardzo złego rokowania. W istocie tak właśnie jest. Wysokie wskaźniki zapadalności (1,5 mln nowych przypadków rocznie na świecie) wynikają wprost z ogromnego rozpowszechnienia palenia tytoniu, a dotychczas zrealizowane liczne programy krajowe i międzynarodowe zmierzające do ograniczenia rozpowszechnienia palenia tytoniu, a pośrednio do zmniejszenia liczby zachorowań na raka płuca, okazały się nieskuteczne. Przeciwnie, ich częstość na świecie stale rośnie. Również w Polsce jest on najczęstszym nowotworem złośliwym. Rocznie umiera z tego powodu około 20 000 osób.

U większości pacjentów rak płuca już w momencie rozpoznania jest chorobą w późnym stadium zaawansowania, w którym nie ma możliwości radykalnego leczenia operacyjnego. Ponadto, nawet w grupach chorych poddanych doszczętnej resekcji, 5-letnie przeżycie wynosi 20–60% w zależności od stadium choroby, natomiast w grupie wszystkich chorych na raka płuca zaledwie 5–15%. Dla większości zatem chorych na raka niedrobnokomórkowego płuca (NSCLC, non-small cell lung cancer) jedyną możliwością terapii jest leczenie paliatywne, w tym chemioterapia, a także w ostatnich latach — terapia molekularnie ukierunkowana.

Personalizacja leczenia w onkologii jest nieodłącznym procesem przebiegającym równolegle do badań nad biologią nowotworów, w tym raka płuca, a olbrzymie nadzieje pokładane są już nie tyle w postępie technik chirurgicznych, ale przede wszystkim w poszukiwaniu i konstruowaniu nowych klas leków przeciwnowotworowych lub ich kombinacji z substancjami potęgującymi działanie przeciwnowotworowe. Pojawienie się nowych możliwości leczenia celowanego opartego na molekularnej charakterystyce chorych pozwala na zindywidualizowane leczenie, które, jak wskazują wyniki przeprowadzonych badań, może okazać się bardziej efektywne i bezpieczne.

Chemioterapia w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca ma stosunkowo niedługą historię: dopiero w 1995 roku opublikowano metaanalizę wykazującą przewagę chemioterapii opartej na platynie w stosunku do najlepszego leczenia objawowego (BSC, *best supportive care*).

Do niedawna w przypadkach niedrobnokomórkowego raka płuca w leczeniu I linii najskuteczniejsze okazywały się schematy dwulekowe oparte na cysplatynie, w terapii II linii: pemetreksed i docetaksel. W piśmiennictwie światowym istnieje ograniczona liczba publikacji dotyczących badania mechanizmów współdziałania analogu witaminy D z inhibitorami kinaz tyrozynowych stosowanych łącznie z klasycznymi, wymienionymi powyżej, cytostatykami.

Opracowania, u którego podstaw leżałyby założenia przyjęte przez Autorkę w polskim piśmiennictwie brak. Rozwiewa to ewentualne wątpliwości, czy podejmowanie tej tematyki badań jest uzasadnione i pożądane. Bez wątpienia warto podjąć tematykę odnoszącą się właśnie do tego zagadnienia, ponieważ ma ono niebywale poglądowy i praktyczny aspekt. Po lekturze wstępu i wynikających z niego konsekwencji odnośnie treści rozprawy nie mam wątpliwości, że tak określone przez Autorkę zadanie badawcze jest zasadne i potrzebne.

II. Cel badawczy, przedmiot pracy i przyjęta metodologia

Wybór tematu pracy doktorskiej i określenie celu zadania badawczego budzi już we wstępie zainteresowanie i oczekiwania dotyczące efektu końcowego rozprawy.

Recenzowana praca jest syntetyczna, zwięzła, metodyczna i niezwykle uporządkowana merytorycznie, zważywszy na fakt, że jej przedmiotem jest temat bardzo szeroki, jakim jest złożona terapia w niezwykle heterogennej jednostce kliniczno-patologicznej, jaką jest rak płuca. W sposób naturalny prowokuje to pytanie, czy Doktorantka posiadła cechę badawczą odzwierciedlającą cenną umiejętność ważenia kwestii wyboru informacji najistotniejszych i syntezy w miejscach, w których jest ona pożądana, i nie sprawi, że narazi go to na zarzut powierzchowności z hasłowym li tylko i migawkowym podejściem do tematu. Odniosłam jednak wrażenie, że **Autorce udało się wykonać zadanie** w zakresie wspomnianych wyborów zagadnień wartościowych i mniej istotnych z punktu widzenia podjętej problematyki zagadnień złożonej terapii w raku płuca, a w konsekwencji **znakomicie powiodła się selekcja materiału poglądowego i badawczego**, na podstawie której budowała swoją wiedzę. Rozważania prowadzone są w sposób wyselekcjonowany i rozprawa nie jest nasycona „elementami zbędnymi".

III. Ocena systematyki pracy i zawartości poszczególnych rozdziałów

Przedstawiona mi do recenzji praca ma typowy, klasyczny dla tego typu opracowań układ i liczy 162 strony maszynopisu. Opracowanie podzielone jest na następujące rozdziały: syntetyczne *Streszczenie w języku polskim i angielskim (2 strony), Spis treści (2 strony), Wstęp (10 stron), Założenia i cel pracy (1 strona), Materiał i metody (26 stron), Wyniki (58 stron), Dyskusja (18 stron), Wnioski (1 strona), Literatura (14 stron) i Suplement fotograficzny (2 strony).* Bardzo cenne i praktyczne są trzy elementy publikacji: (1) ***Wykaz skrótów*** (4 strony) niebywale staranny i pomocny w naszpikowanym trudną, w tym anglojęzyczną nomenklaturą tekście, (2) zbiorczy rozdział ***Podsumowanie wyników*** (2 strony) porządkujący bogate treści samego rozdziału Wyniki oraz (3) zamieszczony na końcu tekstu, bardzo przydatny w tak bogato ilustrowanych opracowaniach ***Spis rycin i tabel*** (4 strony).

Wstęp jest zwarty, skoncentrowany, stanowi syntezę poglądów na temat epidemiologii, czynników etiologicznych, histopatologii, diagnostyki i leczenia raka płuca, wybranych zagadnień biologii guza w kontekście terapii przeciwnowotworowych oraz roli i znaczenia witaminy D w tej chorobie. Oparty jest o dobrze dobrane piśmiennictwo, które uwzględnia zarówno pierwsze, już historyczne, ale niezwykle interesujące publikacje, jak i najnowszą wiedzę w zakresie tematyki badawczej. Rozdział jest przejrzysty, zrozumiały i stanowi doskonały „background", nawet – a może zwłaszcza - dla czytelników, którzy nie zajmują się na co dzień tą tematyką. Rozdział ten, choć nie szokuje nowościami, **wskazuje na sporą i uporządkowaną wiedzę Doktorantki w zakresie obranej tematyki badawczej i ma dużą moc edukacyjną i dydaktyczną**.

Na uwagę zasługuje bogaty w dane z już nieomal historii medycyny podrozdział wstępu ***Angiogeneza nowotworowa i terapie antyangiogenne***, z którego wprost czerpać można wiedzę dotyczącą podwalin tych zagadnień, a nawet historycznych osiągnięć odkrywców znaczenia angiogenezy w rozwoju nowotworów i pierwszych koncepcji terapeutycznych opartych o jej hamowanie w ich leczeniu. Niezwykle doceniam tę „erudycyjną" wstawkę Autorki – świadczy o Jej szerokich horyzontach i chęci wykraczania poza wiedzę stricte biologiczną i medyczną.

Jako patomorfolog diagnozujący mikroskopowo raka płuca zwróciłam szczególną uwagę na podrozdział wstępu dotyczący podziału histologicznego raków płuca (strony 17-18), w którym Autorka w sposób krótki i syntetyczny, ale w zupełności wystarczający dla zrozumienia zagadnienia przedstawia charakterystykę patologiczną typów raka zgodnie z nowoczesną nomenklaturą. Niezwykle doceniam również fakt, że Autorka z pełnym zrozumieniem i konsekwencją posługuje się najnowszą klasyfikacją histologiczną raka płuca wg WHO z 2004 roku włącznie z jej zmianami i modyfikacjami dla raka gruczołowego wg Rekomendacji wprowadzonych przez IASLC/ERS/ATS z roku 2011. Świadczy to o wnikliwej analizie tematu oraz rozumieniu pojęć i diagnoz histopatologicznych.

Cele pracy są wyjątkowo proste i czytelne. Zostały jasno sformułowane i wynikają wprost z przygotowania merytorycznego i warsztatowego Autorki. Pewien niedosyt budzić może jedynie brak (nawet krótkiego) w tym miejscu autorskiego, merytorycznego uzasadnienia podjęcia badań.

Materiał i metody. Badanie zostało bardzo dobrze zaplanowane, a dobrane przez Doktorantkę metody i techniki badawcze (znakomicie, przejrzyście i syntetycznie przedstawione i scharakteryzowane) pozwoliły na zrealizowanie założonego celu badań. Rozdział został napisany wyczerpująco i stanowił bardzo dobrą podstawę do uzyskania wyników. Ma wręcz charakter instruktażowy i może stanowić swoisty model i algorytm wykonywania tego typu doświadczeń. Rozumiem, że całą część doświadczalną Doktorantka przeprowadziła samodzielnie. Kwestia analizy statystycznej – czy sama przeprowadziła również obliczenia statystyczne?

Wyniki. Bogaty w treści, a jednocześnie skoncentrowany i esencjonalny rozdział został sensownie napisany i w mojej ocenie bardzo cenny i przejrzysty jest podział na podrozdziały omawiające odrębnie rezultaty poszczególnych etapów doświadczenia. Zwraca uwagę fakt, że Autorka nie tylko omawia detalicznie otrzymane wyniki, ale jednocześnie niemal wszystkie ich części ilustruje rycinami i tabelami. Proste, ale czytelne tabele, a zwłaszcza fenomenalne wieloparametryczne ryciny pozwalają na zapoznanie się z wynikami w przejrzystej formie, co – nie ukrywam – znacznie ułatwiło zgłębienie i przestudiowanie efektów przeprowadzanych analiz. Całość rozdziału stanowi dowód rzetelnej, żmudnej i pracochłonnej analizy wszystkich badanych parametrów i procesów. Obserwacje poczynione przez Doktorantkę mają istotne implikacje praktyczne, a mam nadzieję, że już wkrótce również kliniczne.

Dyskusja. Autorka porównała i przedyskutowała otrzymane wyniki z wynikami innych autorów posługując się biegle wiedzą dostępną głównie – o ile nie wyłącznie – w anglojęzycznym piśmiennictwie. Wyczerpująco, z naukową dojrzałością, ale i krytycyzmem przeanalizowała wszystkie uzyskane wyniki i zaprezentowała swoje opinie i sugestie na tle wyników badań i obserwacji innych autorów. Rozdział napisany jest syntetycznie, Autorka formułuje swoje uwagi i komentarze w sposób klarowny i wnikliwy, ale jednocześnie dość powściągliwy i rozważny. Dyskretnie akcentuje własne poglądy i przemyślenia dotyczące wartości analizowanych parametrów. Podkreśla praktyczne implikacje wyników pracy poparte danymi z piśmiennictwa, co jest istotnym walorem recenzowanej rozprawy doktorskiej. Dyskusja jest rzec by można chirurgicznie zwięzła i konkretna, zwłaszcza w świetle mnogości przeprowadzonych doświadczeń i otrzymanych wyników. Czytałam ją i analizowałam z dużym zainteresowaniem. Konkluzje Autorki i finał doświadczeń ukazuje świadomość badacza, że przeprowadzone analizy mają zaledwie charakter wstępny i mogą stanowić podstawę do dalszych badań. W moim odbiorze, rozdział ten stanowi cenny i jeden z najlepszych elementów rozprawy.

Wnioski. Dziesięć krótkich i esencjonalnych wniosków końcowych świadczy, że - zgodnie z zasadami rozprawy doktorskiej - Autorka osiągnęła założone cele. Wnioski nie są szokująco odkrywcze, ale spójne, proste i bardzo rzeczowe. Ponad wszystko mają znakomite znaczenie praktyczne i niosą potężny, choć skoncentrowany ładunek informacji wprost wynikającej z przeprowadzonych badań.

Wniosek pierwszy i drugi są niebywale praktyczne i oby wkrótce miały charakter utylitarny: zawiera wręcz sugestie możliwego uzupełniającego postępowania z pacjentami z rakiem płuca i wskazówki odnośnie nowych rodzajów terapii.

IV. Styl wypowiedzi, redakcja pracy i przyjęta terminologia

Praca napisana jest językiem poprawnym, z użyciem prawidłowej stylistyki i terminologii. Czynienie zadość językowej poprawności i elegancji idzie w parze z dobrym standardem sztuki argumentacji i polemiki. Styl wypowiedzi wskazuje na to, że Autorka jest przekonana do swoich poglądów, że są one przemyślane oraz że jest ich w stanie sprawnie bronić.

Pod względem edycyjnym i formalnym (a również estetycznym) praca jest przygotowana niebywale starannie, nienagannie i jest niemal perfekcyjna, wręcz modelowa, co poniekąd świadczy również o warsztacie pracy Doktorantki...

Z obowiązku recenzenta wskazać zmuszona jestem na nieliczne błędy merytoryczne, nomenklaturowe, interpunkcyjne i edytorskie, które nie wpływają na wysoką merytoryczną ocenę i nie umniejszają istotnych osiągnięć pracy.

W szczególności należy uściślić następujące kwestie:

1) We ***Wstępie*** na stronie 14 dwukrotnie przewijają się dane epidemiologiczne dotyczące – jak pisze Autorka – *„raka okrężnicy i **odbytu"*** - oczywiście chodzi o ***raka odbytnicy***, a nie odbytu, to dwie zupełnie inne jednostki histo-kliniczne, a ten ostatni jest jednostką bardzo rzadką;
2) zamiast hasła *„literatura"* (literatura wszak kojarzy się nam jednoznacznie z literaturą piękną...) zalecałabym stosowanie terminologii *„piśmiennictwo"* (tytuł Rozdziału 8, str. 143; Wstęp podrozdział 1.3 strona 24, Wstęp podrozdział 1.5 strona 31);
3) w całym tekście, a zwłaszcza we Wstępie, przewija się w różnym kontekście, np. czynników etiologicznych (Podrozdział 1.1, strona 16, wers 23), hasło ***„nowotwory płuca"*** – rozumiem, że jest to pewnego rodzaju skrót myślowy, ale chyba w tej pracy nie możemy sobie na owo uproszczenie pozwolić, gdyż mówimy o **nowotworach złośliwych płuca,** a więc **rakach, a nie o łagodnych (gruczolak, tłuszczak, hamartoma),** z którymi np. wymieniane czynniki etiologiczne nie mają związku;
4) we ***Wstępie***, podrozdziale 1.4. (strona 27, wers 21 i strona 28 wers 2) pojawia się słowo ***„stroma"*** – może warto byłoby unikać anglojęzycznych kalek językowych i zastosować po prostu polskie słowo ***„podścielisko guza"*** ?
5) ***Wstęp*** podrozdział 1.5 (strona 31, wers 8) – jest: „prowadzi do ***skurczy*** *mięśni*", powinno być ***„skurczów*** mięśni".

V. Dokumentacja materiału badawczego i wykorzystanie piśmiennictwa

Pracę ilustruje aż 48 znakomitych, konsekwentnych, jednolitych estetycznie i formalnie rycin i 18 przebogatych w istotne treści tabel, które bardzo obrazowo i czytelnie prezentują analizowane parametry i treści. Na szczególną uwagę zasługuje piękna edytorsko i niebywale dydaktyczna Rycina nr 5 ze strony 23 (*„Kamienie milowe w rozwoju terapii antyangiogennej"*) oraz Rycina nr 47 ze strony 141 (*„Schemat cytotoksycznego współdziałania leków..."*).

Cytowane piśmiennictwo jest imponujące: bardzo dobrze dobrane, właściwie związane z tematyką pracy, w znakomitej większości anglojęzyczne i odpowiednio wykorzystane w konstrukcie wstępu i dyskusji. Zwraca uwagę fakt, że na 211 cytowanych pozycji aż 74 (35%) to publikacje pochodzące z lat 2011-2015, z tego aż 12 pozycji (6%) to publikacje najnowsze, pochodzące z 2015 roku! 67 cytowanych prac (32%) to prace z lat 2006-2010, a zaledwie 30 pozycji (14%) to prace pochodzące sprzed 2000 roku. Jako pozytyw uznaję również fakt, że Autorka nie ma tendencji (i słusznie) do cytowania wszystkiego, co zostało odnośnie danej kwestii napisane. Potrafi zatem selekcjonować materiał badawczy i polemiczny stosownie do jego wagi i znaczenia.

VI. Ocena zawartości merytorycznej pracy – podsumowanie

1. Po lekturze Dysertacji jednoznacznie stwierdzam, że uzyskane w rozprawie wyniki są spójne i ważne dla podjętej problematyki badawczej. **Doktorantka udowodniła, że potrafi samodzielnie sformułować i rozwiązać problem naukowy**, dobrze dobrać i opanować techniki pracy, które posłużyły do uzyskania wyników na dobrym poziomie, a także przeprowadzić rzeczową dyskusję swoich wyników z wynikami innych grup badawczych.
2. Pragnę podkreślić, że w pracy znalazłam to, czego mogłam oczekiwać po przemyślanych uwagach wprowadzających, określających tematykę badania, jego założenia cele, metody i spodziewany efekt. **Autorka działa metodycznie, systematyka podjętej problematyki i sposób przedstawiania analizowanego materiału badawczego wskazuje, że dużo wie i sprawnie porusza się w zagadnieniach terapii raka płuca**. Wiedzę tę wykorzystała pisząc rzetelną, dobrze udokumentowaną pracę doktorską, czym udowodniła, że potrafi prowadzić samodzielnie pracę naukową na zadowalającym poziomie. Rozprawa jest dobrym punktem wyjścia do dalszego doskonalenia warsztatu badawczego i prowadzenia samodzielnych projektów naukowych, zwłaszcza w już zapoczątkowanym temacie.
3. Stwierdzam, że **praca pod względem merytorycznym, metodologicznym i warsztatowym zasługuje na pozytywną oceną.** Jest to opracowanie na pierwszy rzut oka monotematyczne i jednowymiarowe, w istocie jednak niebywale pracochłonne, rzetelne i oddające dobrze problemy złożonego i trudnego leczenia chorych na raka płuca. Odbieram ją jako solidną, pogłębioną, staranną i wyważoną. Praca stanowi bardzo cenne obserwacje dojrzałego badacza, rzucające nawet nie nowe, ale w ogóle jakiekolwiek światło na zagadnienie bardzo słabo dotychczas wyrażone i prezentowane nie tylko w polskim piśmiennictwie.

VII. WNIOSEK KOŃCOWY

Po wnikliwej lekturze dysertacji Pani mgr inż. Ewy Maj oceniam ją bardzo wysoko. Jest to obszerne opracowanie materiału badawczego przy użyciu nowoczesnych metod posiadające ponadto niekwestionowany wymiar praktyczny, co w przypadku pracy naukowej jest zaletą bezsprzeczną.

Zdaniem recenzenta, oceniana praca pt. „Mechanizm regulujący współdziałanie analogu witaminy D w łącznym stosowaniu z cytostatykami i inhibitorami kinaz tyrozynowych w modelu niedrobnokomórkowego raka płuca" w pełni spełnia kryteria przypisane rozprawom na stopień naukowy doktora przez Ustawę o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym.

Dlatego zwracam się z pełnym przekonaniem do Rady Naukowej INSTYTUTU IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ PAN we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr inż. Ewy Maj do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie ze względu na wybitne walory merytoryczne pracy i jej szczególną wartość badawczą wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu o wyróżnienie rozprawy i jej nagrodzenie.

Z wyrazami szacunku
dr hab. n. med. Agnieszka Hałoń, prof. nadzw.

A. Hałoń

Wrocław, 5 maja 2016 r.