

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
Przewodnicząca
prof. dr hab. Agnieszka Halor

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Łukasza Hajaca
pt. Ekspresja Ki 67 i kaspazy 3 oraz analiza wybranych czynników
prognostycznych wpływających na uzyskanie I i II remisji u chorych na
chłoniaki złośliwe**

Niewiele badań dotyczy oceny ryzyka skuteczności leczenia u chorych na chłoniaki nieziarnicze po wystąpieniu nawrotu lub progresji po leczeniu I linii a ich wyniki nie są jednoznaczne. Sprzeczne doniesienia dotyczą związku ekspresji Ki67 i kaspazy 3, parametrów będących wykładnikami odpowiednio procesu proliferacji i apoptozy komórek chłoniakowych z przebiegiem klinicznym choroby i wynikami leczenia.

Celem pracy była analiza czynników mogących wpływać na uzyskanie I i II remisji choroby u chorych na chłoniaki złośliwe, ze szczególnym uwzględnieniem ekspresji antygenu Ki67 i kaspazy 3.

Oceniano:

Jakie parametry kliniczne oceniające stan biologiczny oraz które wyniki badań laboratoryjnych u chorych na chłoniaki nieziarnicze mogą wpływać na uzyskanie odpowiedzi terapeutycznej na chemioterapię pierwszego i drugiego rzutu, medianę czasu wolnego od progresji oraz czasu przeżycia całkowitego.

Ponadto badano czy ekspresja Ki67 i kaspazy 3 wpływa na rokowanie u chorych na chłoniaki, jakie wykazuje korelacje oraz czy znaczenie rokownicze kaspazy 3



utrzymuje się w nawrocie choroby, czy powszechnie stosowane skale prognostyczne: Ann Arbor i IPI stratyfikują ryzyko zgonu pacjentów z chorobą nawrotową, podobnie jak na początku leczenia; czy istnieje zależność pomiędzy ryzykiem zgonu pacjentów z chorobą nawrotową a wartością ocen w skalach Ann Arbor i IPI oraz wybranych parametrów klinicznych i laboratoryjnych wykazanych w fazie nawrotu, czy gęstość dawki leczenia, liczba otrzymanych cykli chemioterapii, zastosowanie radioterapii lub przeszczepienia komórek macierzystych wpływa na rokowanie chorych z nawrotem chłoniaka oraz czy utrzymanie pełnej gęstości dawek chemioterapii w nawrocie ma istotne znaczenie dla efektu leczenia oraz zmniejszenia ryzyka zgonu. Lek. Łukasz Hajac poprawnie sformułował problemy i zadania badawcze pracy.

pracy.

Wstęp rozprawy doktorskiej jest obszerny i zawiera szereg podrozdziałów. Doktorant omawia kolejno proces dojrzewania limfocytów B, T, komórek NK, wpływ mikrośrodowiska szpiku i cząsteczek adhezyjnych na limfopoezę. Kolejno przedstawia definicje i podział chłoniaków nieziarniczych, ich epidemiologię, patogenezę, objawy kliniczne, rozpoznanie i rokowanie. Ponadto podaje ocenę odpowiedzi i kryteria remisji, wpływ wybranych schematów cytostatycznych na uzyskanie I i II remisji choroby. Osobne podrozdziały poświęcone są przedstawieniu antygenu Ki67 jako markera komórek nowotworowych, znaczenie diagnostyczne i prognostyczne w guzach litych i nowotworów układu chłonnego. Ponadto omawia budowę i funkcję kaspaz, budowę i funkcję kaspazy 3 i jej rolę w guzach litych i w apoptozie komórek chłoniakowych. Wstęp stanowi bardzo dobre w pełni wyczerpujące wprowadzenie do badań własnych doktoranta.

Material i metody

Przeanalizowano 640 przypadków chorych na chłoniaki nieziarnicze leczonych w Klinice Hematologii i Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku oraz Oddziale Chemioterapii Dolnośląskiego Centrum Onkologii we Wrocławiu. Do grupy badanej włączono 131 pacjentów z chorobą nawrotową. Dostępne dane zebrano z dokumentacji medycznej. Zgromadzono pulę bloczków parafinowych w celu immunohistochemicznego oznaczenia jakościowego i ilościowego ekspresji Ki67 oraz kaspazy 3. Dane pozyskane z dostępnej dokumentacji medycznej chorych zebrano w tabelach arkusza kalkulacyjnego za pomocą programu OpenOffice Calc 3.4. Na potrzeby pracy oceniano stopień zaawansowania klinicznego w skali Ann Arbor oraz wyliczano IPI na podstawie dostępnych wyników badań laboratoryjnych, obrazowych oraz opisu stanu pacjentów. Odpowiedź na leczenie oceniano według kryteriów IWC

Dodatkowo dane dotyczące przeżyć chorych uzupełniono o daty zgonu z Dolnośląskiego Rejestru Nowotworów, w celu poprawy jakości danych statystycznych do oceny czasu przeżycia całkowitego.

Oznaczenia Ki67 wykonano na 68 dostępnych bloczkach histopatologicznych. Zliczano udział procentowy komórek wykazujących ekspresję tego białka. Do celów analizy statystycznej traktowano tą wartość w sposób liniowy.

Wyniki ekspresji kaspazy 3 podzielono w zależności od natężenia ekspresji na: punktową, ogniskową oraz rozlaną.

Do celów analizy statystycznej zgrupowano wyniki ekspresji punktowej oraz ogniskowej jako grupę chłoniaków o słabej ekspresji kaspazy 3, podczas gdy grupa o ekspresji rozlanej odpowiadała grupie o silnej ekspresji.

W badanym materiale uzyskano równomierny rozkład chorych z podgrup chłoniaków nieziarniczych indolentnych i agresywnych. Czasy przeżycia

całkowitego, wystąpienia nawrotów oraz ocena skuteczności leczenia były adekwatne do danych literaturowych, świadcząc o reprezentatywności badanej kohorty.

Analiza statystyczna

Dokonano metod analizy statystycznej dla całej badanej grupy z podziałem na podgrupy czynników i rodzaju chłoniaka a także parametrów w I i II remisji choroby metodami regresyjnymi i taksonometrii.

Wyniki

Wykazano skuteczność klasycznych czynników rokowniczych, jak skala Ann Arbor czy IPI pokazując ich istotność statystyczną wobec ryzyka czasów OS i PFS oraz odpowiedzi na leczenie, z zaznaczeniem zwiększenia wagi IPI w przypadku nawrotu choroby przy mniejszym znaczeniu oceny Ann Arbor. Kluczowe parametry biologiczne u chorych, takie jak ocena sprawności WHO czy obecność objawów ogólnych choroby miały istotny wpływ na ryzyko zgonu.

Z kolei BMI modyfikowało to ryzyko jedynie u chorych z chłoniakami agresywnymi. Z badań laboratoryjnych większa i stabilna wartość Hgb miała korzystne znaczenie rokownicze w chorobie nawrotowej, natomiast wysoka aktywność LDH była czynnikiem niekorzystnym. Większa bezwzględna liczba eozynofili we krwi obwodowej w ocenie wyjściowej jak i przy nawrocie choroby wpływała na zmniejszenie ryzyka zgonu.

Skuteczne leczenie w pierwszej jak i drugiej indukcji i uzyskanie remisji częściowej lub całkowitej miało w przedstawianej grupie kluczowe znaczenie rokownicze. Szybki nawrót choroby zwiększał ryzyko zgonu i zmniejszał szansę na skuteczność dalszego leczenia. Na uzyskanie dobrego efektu terapeutycznego znaczenie miały gęstość dawki i liczba podanych cykli chemioterapii, także

w chorobie nawrotowej. Pozytywny wpływ na czas do nawrotu i odpowiedź na leczenie miała także radioterapia. Nie wykazano takiej zależności dla procedury autologicznego przeszczepienia szpiku w nawrocie choroby, choć liczebność grupy poddanej temu leczeniu była ograniczona.

Nie wykazano liniowej zależności między ekspresją Ki67, a losami całej grupy pacjentów. W analizach podgrup udowodniono statystycznie, iż wysoka wartość tego parametru wpływała na zwiększenie ryzyka zgonu, skrócenie czasu do progresji, oraz gorszą odpowiedź (ORR) u chorych z chłoniakami indolentnymi. W tej grupie chorych znaleziono korelację pomiędzy wartością Ki67 a wartościami IPI, LDH i HgB. Wykazano odwrotną korelację siły ekspresji kaspazy 3 do wartości Ki67 oraz jej korelację z wartościami eozynofili, co po dalszej walidacji mogłoby potencjalnie służyć jako ekwiwalent oznaczania tego białka. W przypadku wysokiej ekspresji kaspazy 3 wykazano zmniejszenie ryzyka zgonu i niepowodzenia leczenia systemowego, szczególnie w chorobie nawrotowej, co może zostać wykorzystane do selekcjonowania chorych pod kątem optymalizacji leczenia systemowego. Wyniki pracy zostały opracowane starannie i jasno przedstawione w postaci tabel i rycin.

W Dyskusji Autor wykazał, że jest świetnie obeznany z piśmiennictwem, które jest aktualne i starannie dobrane oraz co godne podkreślenia potrafi interpretować własne wyniki w świetle innych doniesień.

Dyskusja jest obszerna i wyczerpująca.

Wnioski odpowiadają wynikom uzyskanych badań.

W podsumowaniu muszę podkreślić trafność podjętej tematyki badawczej i wysoką wartość poznawczą i merytoryczną ocenianej pracy. Uzyskane wyniki mają duże znaczenie dla nauki i praktyki klinicznej.

Praca jest napisana poprawnie pod względem językowym, stylistycznym i interpukcyjnym.

Dobór literatury właściwy. Piśmiennictwo zawiera najnowsze światowe publikacje. Autor wykazuje umiejętność wykorzystania dostępnych źródeł piśmiennictwa, poprawnie sformułował zadania badawcze, użył trafnych metod i narzędzi badawczych. Układ pracy jest poprawny z prawidłową strukturą podziału treści.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DZ. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Ze względu na wysoki poziom naukowy przeprowadzonych badań, które mają potencjał wykorzystania w praktyce klinicznej, niezwykle staranną redakcją pracy mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wysoce pozytywną recenzję pracy z wnioskiem o dopuszczenie lek. Łukasza Hajaca do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie tej rozprawy.


prof. dr hab. Iręna Frydowska
specj. chorób wewnętrznych
i hematologii
51-602 Wrocław, ul. Kochanowskiego 3
tel. 661317832 8621490