

Dr hab. n. med. Ewa Nowakowska-Zajdel, prof. SUM
Zakład Profilaktyki Chorób Żywieniowozależnych
Katedra Profilaktyki Chorób Metabolicznych
Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Bytom, 16.07.2024 rok

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. Marzeny Lendy-Petrykowskiej

pt. Ocena przeżycia całkowitego oraz przeżycia wolnego od nawrotu nowotworu pacjentów z rakiem pęcherza moczowego poddanych chemioterapii gemcytabina plus cisplatyna lub gemcytabina plus karboplatyna z uwzględnieniem nowej klasyfikacji patomorfologicznej

Identyfikacja biomarkerów i czynników predykcyjnych w chorobach nowotworowych od wielu lat jest jednym z najważniejszych kierunków badawczych. Biomarkery mogą mieć znaczenie prognostyczne, pozwalające na ustalenie rokowania w danej grupie chorych lub też predykcyjne umożliwiające stratyfikację chorych pod kątem terapii. W wielu nowotworach leczenie jest zindywidualizowane, oparte o molekularne cechy nowotworu lub i cechy kliniczne. Mając zidentyfikowany czynnik predykcyjny można także określić odsetek odpowiedzi na leczenie i prognozować czas przeżycia całkowitego.

Rak pęcherza moczowego jest nowotworem złośliwym wywodzącym się najczęściej z komórek nabłonka przejściowego, co stanowi ok. 90% wszystkich nowotworów nabłonkowych tego narządu. Znacznie rzadziej występuje rak płaskonabłonkowy, gruczolakorak, chłoniak, rak drobnokomórkowy, sarkomatoidalny, neuroendokryny i inne. Rokowanie zależy od zaawansowania procesu nowotworowego, cech kliniczno-histopatologicznych, radykalności operacyjnej i zrealizowanego leczenia skojarzonego. Leczenie raka pęcherza moczowego wymaga wielospecjalistycznego postępowania, zgodnie z ustalonymi standardami opartymi o dowody naukowe. Niestety nadal odsetek przeżyć 5-letnich w Polsce jest niezadawalający i wynosi ok. 62%, w Europie 68%. Zasady leczenia są ściśle określone na podstawie stratyfikacji

grup ryzyka w zależności od raków nienaciekających (NMIBC) lub naciekających mięśniówkę właściwą pęcherza (MIBC). I w zależności od rozpoznania NMIBC lub MIBC oraz uznanych czynników prognostycznych, na podstawie wytycznych towarzystw onkologicznych i urologicznych prowadzone jest postępowanie diagnostyczne i terapeutyczne. Leczenie zaawansowanych postaci raka pęcherza moczowego jest skojarzone, a w leczeniu systemowym poza chemioterapią wykorzystuje się immunoterapię, koniugaty i leki ukierunkowane molekularnie. Poszukuje się czynników predykcyjnych, które warunkowałyby wybór postępowania lub pozwalały na określenie odpowiedzi.

Uważam, że podjęty przez Doktorantkę temat przydatności markerów immunohistochemicznych w raku pęcherza moczowego może mieć znaczenie praktyczne. Ocena immunohistochemiczna jest stosunkowo niedrogą i dostępną procedurą.

Doktorantka dokonała także próby oceny OS i DFS u chorych na raka pęcherza moczowego poddanych chemioterapii. Dodatkowo zestawiała w formie tabeli dotychczasowe doniesienia na temat markerów IHC warunkujących podział na guzy luminalne, bazalne, mieszane i podwójnie ujemne.

Rozprawa liczy 75 stron z podziałem na 6 rozdziałów. Pracę uzupełniają: wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo. Brakuje wykazu tabel i rycin.

We wstępie Doktorantka omawia typy histologiczne raka urotelialnego, zgodne z aktualną klasyfikacją WHO, stopnie zaawansowania wg TNM oraz podział w zależności od stopnia naciekania mięśniówki. W dalszej części wstępu omawia podstawowe zasady leczenia: miejscowego, trójmodalnego czy systemowego, z uwzględnieniem immunoterapii. W ostatnim rozdziale wstępu Doktorantka przytacza szereg badań poświęconych klasyfikacji patomorfologicznej i przydatności oznaczeń immunohistochemicznych: p53, PPAR γ , CK20, CK5, CK14, GATA3, CK5/6, których przydatność może mieć znaczenie prognostyczno-predykcyjne. Wspomina także o znaczeniu profilowania mRNA na podstawie którego można także wyodrębnić różne podtypy raka urotelialnego. Jednak jak dotąd znaczenie praktyczne oznaczeń IHC i profilowanie molekularne nie zostało jeszcze dokładnie sprecyzowane w odniesieniu do wyboru leczenia – chemioterapia, leki immunologiczne, koniugaty.

Cele pracy to ocena przeżycia wolnego od nawrotu (DFS) i przeżycia całkowitego (OS) z uwzględnieniem ekspresji CK5/6 i GATA3 w raku pęcherza moczowego oraz próba odpowiedzi na pytanie czy w nawrotach zmienia się ekspresja badanych markerów IHC i czy istnieje związek podtypu w chwili rozpoznania z odpowiedzią na leczenie.

Badanie było retrospektywne i zostało przeprowadzone w grupie 77 chorych na raka urotelialnego pęcherza moczowego lub moczowodu bez danych klinicznych rozsiewu nowotworu. Badanie nie wymagało zgody Komisji Bioetycznej (nr KB-0012/237/06/18).

Wyjściowo największą podgrupę stanowili chorzy z podtypem luminalnym GATA3+, CK5/6- (50 chorych – 64,9%), następnie z podtypem mieszanym GATA3+, CK5/6+ (23 chorych – 30%). U 2 chorych stwierdzono podtyp bazalny (GATA3-, CK5/6+) i u 2 chorych podtyp podwójnie ujemny (GATA3- i CK5/6-). Grupa badanych była niejednorodna pod względem zaawansowania klinicznego i zastosowanego leczenia. 35 chorych (45,5%) była leczonych operacyjnie (cystektomia), 42 chorych (54,5%) nie zakwalifikowano do leczenia operacyjnego. Większość chorych (46, 59,7%) otrzymała chemioterapię: neoadjuwantową (30 chorych) lub adjuwantową (12 chorych) i paliatywną w stadium rozsiewu (4 chorych). Zastosowano gemcyabinę z cisplatyną lub w stadium rozsiewu gemcyabinę z karboplatiną.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 13. Wykorzystano test Shapiro-Wilka, U-Manna-Whitney’a, krzywe przeżycia analizowano metodą Kaplana-Meiera a czas przeżycia porównywano między grupami testem long-rank. Wykorzystano także wieloczynnikowy model hazardu Coxa. We wszystkich analizach przyjęto za istotne statystycznie $p < 0,05$.

Wyniki Doktorantka przedstawiła w 7 tabelach i na 6 rycinach. Ostatecznie ze względu na mały odsetek w grupie badanej raków bazalnych (2 chorych) i podwójnie ujemnych (2 chorych) do analizy przeżyć wykorzystano raki GATA3+ i oddzielnie CK5/6+.

Analizie poddano odsetek nawrotów w całej grupie z podziałem na podtypy – oczywiście analiza podgrup – podtyp 2 i 4 nie ma możliwości wnioskowania na podstawie obserwacji łącznie 4 chorych. W tabeli 3 przedstawiono kolejne nawroty raka pęcherza moczowego – zwraca uwagę fakt wyższego odsetka nawrotów w podtypie luminalnym.

W tabeli 4 Doktorantka przedstawia odsetek nawrotów w zależności od cechy G, wyniki potwierdzają się w codziennej praktyce klinicznej. I kolejną analizę Doktorantka przedstawiła w tabeli 5 – nawroty raka w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego, czyli z

uwzględnieniem cechy T i N, jednak ta analiza jest trudna interpretacyjnie, ponieważ grupy były nieliczne i nie uwzględniono w tej analizie sposobu leczenia. *Pojawia się pytanie jaki był cel przedstawienia przez Doktorantkę analizy nawrotów w zależności od cech G, T i N?*

Niezwykle ciekawa natomiast jest analiza przedstawiona w tabeli 6 wskazująca na związek DFS1 i DFS3 z leczeniem operacyjnym (radykalnym). Ale co ciekawe, że dłuższy czas do progresji DFS1 na granicy istotności wiązał się z obecnością GAT3+. Ekspresja CK5/6+ i leczenie operacyjne miało wpływ na granicy istotności statystycznej na czas przeżycia wolnego od nawrotu DFS3. *Uprzejmie proszę o podanie przedziałów czasowych uzyskanych wyników.*

Kolejna ciekawa analiza dotyczy OS – prawdopodobieństwo nawrotu CK5/6+ wiąże się z istotnie krótszym czasem OS, natomiast wyższe prawdopodobieństwo nawrotu z GAT3+ wiąże się z dłuższym OS. Bardzo trudna interpretacja tego typu zależności.

W kolejnej tabeli Doktorantka potwierdza te zależności w mniejszej grupie 43 chorych – proszę o przybliżenie i omówienie tej analizy.

W tabeli 9 Doktorantka wskazuje na związek wyjściowej ekspresji CK5/6+ z ekspresją w nawrotach i wiekiem chorych interpretując „że raki urotelialne z ekspresją CK5/6+ w preparacie wyjściowym są związane z istotnie młodszym wiekiem rozpoznania. Pacjenci bez ekspresji chorują w późniejszym wieku... Wyjściowy rak urotelialny bez ekspresji CK5/6- wiązał się z 84% prawdopodobieństwem nawrotu bez ekspresji i 15% prawdopodobieństwem nawrotu z ekspresją... a raki urotelialne z wyjściową ekspresją CK5/6+ wiązały się z 27% prawdopodobieństwem nawrotu bez ekspresji i 73% prawdopodobieństwem nawrotu z ekspresją...” Autorka nie analizuje związku ekspresji GAT3 w guzie wyjściowym i nawrocie ze względu na małą liczebność podgrup.

Dyskusja porządkuje otrzymane wyniki – trudne interpretacyjnie - co świadczy o dobrej znajomości podjętego tematu badawczego. Dyskusja jest bardzo dobrze napisana, z licznie przytaczanymi doniesieniami w tym zakresie. Autorka podkreśla, że raki urotelialne są niejednorodną grupą pod względem molekularnym i histologicznym, co potwierdzają przedstawione wyniki. Dodatkowym utrudnieniem interpretacyjnym jest niejednorodność grupy badanej, o czym Doktorantka pisze w swojej dyzertacji. Jednak wartość podjętych badań jest niezwykle interesująca, może być wykorzystana w codziennej praktyce klinicznej. Autorka przytacza szereg dotychczasowych doniesień, w których podkreśla się znaczenie ekspresji analizowanych białek w odpowiedzi na leczenie i czas przeżycia. Ciekawym i wzbogacającym

pracę jest zestawienie w tabeli najważniejszych badań dotyczących znaczenia markerów IHC w guzach NMIBC/MIBC jako czynników predykcyjnych i prognostycznych

Proszę o wskazanie, które Pani zdaniem z badanych markerów IHC lub też markerów molekularnych będą miały znaczenie w codziennej praktyce klinicznej i dlaczego, szczególnie w odniesieniu do nowych terapii w raku urotelialnym?

Wysoko oceniam dyskusję recenzowanej pracy.

Wnioski. Sformułowano 7 wniosków, które odpowiadają celom pracy, jednak są one w części opisem wyników. W mojej opinii brakuje precyzyjnie sformułowanego podsumowania przeprowadzonych analiz. Uwaga ta nie wpływa na ostateczną bardzo dobrą ocenę pracy.

Piśmiennictwo stanowi 84 pozycji, prawidłowo cytowanych. Prace z ostatnich 5 lat to 29 pozycji, co stanowi około 34% (bez stron internetowych).

Reasumując, chciałabym podkreślić, że rozprawa doktorska lek. **Marzeny Lendy-Petrykowskiej** jest bardzo dobrym i ciekawym opracowaniem a uzyskane wyniki jak i odniesienie do aktualnej wiedzy mogą być wykorzystane w praktyce klinicznej. Warto by było kontynuować badania w celu zwiększenia liczebności grupy z określeniem kryteriów włączenia do badania.

Wysoko oceniam warsztat naukowy Doktorantki i Jej zaangażowanie w przygotowaniu dyzertacji.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Marzeny Lendy-Petrykowskiej spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne, Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie wnioszek o dopuszczenie lek. Marzeny Lendy-Petrykowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Anna Nowakowska-Wójcik