



Łódź, 04.05.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Julii Tuchalskiej-Czuroń n.t. "Badanie wybranych czynników prognostycznych w populacji pacjentów z operacyjnym przewodowym gruczolakerakiem trzustki"

Diagnostyka i leczenie gruczolakeraka trzustki (RT), są bardzo trudnymi wyzwaniami współczesnej medycyny. PDAC jest czwartą przyczyną zgonu z powodu nabłonkowych nowotworów złośliwych w świecie zachodnim.

W przeciwieństwie do innych guzów litych, gdzie w ostatnich latach zanotowano istotny postęp w zakresie wczesnego rozpoznawania i ukierunkowanej terapii, śmiertelność z powodu RT nadal wzrasta. Szacuje się, że w roku 2030 wyprzedzi on w tych smutnych statystykach raka sutka, prostaty i jelita grubego i stanie się drugą co do częstości przyczyną śmierci z powodu nowotworów złośliwych, ustępując jedynie rakowi płuc.

Gruczolakerak trzustki jest nowotworem o wysokiej złośliwości, zaś średni czas 5-letniego przeżycia nie przekracza 7,7%. Agresywny przebieg, późne rozpoznanie oraz słaba podatność na stosowane leczenie powodują, że RT jest nowotworem o najniższej przeżywalności.

Resekcja chirurgiczna jest obecnie jedyną szansą na przedłużenie czasu przeżycia, ale tylko u 15–20% chorych ze świeżym rozpoznaniem guza jest resekcyjny. Istnieje silna potrzeba wykrywania małych, bezobjawowych zmian złośliwych lub ich prekursorów, które są potencjalnie uleczalne. Pomiędzy inicjacją karcinogenezy a rozwojem raka mija prawdopodobnie około 10 lat. Chorzy, u których wykryto guz przypadkowo, mają lepsze czasy przeżycia niż osoby, u których wykryto chorobę po pojawieniu się objawów.

W przypadku guza ograniczonego do trzustki 5-letnie przeżycie wynosi 32%, naciekającego struktury sąsiednie – 12%, a w razie obecności przerzutów odległych –

zaledwie 3%. Łącznie dla wszystkich przypadków RT czas 5-letniego przeżycia nie przekracza 8%.

Od wielu lat prowadzone są intensywne badania skupiające się na poprawie przeżycia chorych na RT poprzez poszukiwanie nowych mechanizmów karcinogenezy, swoistych markerów diagnostycznych i prognostycznych, poprawę technik operacyjnych i wprowadzenie nowych metod leczenia. Niestety na podstawie analizy badań klinicznych opublikowanych od roku 1986 należy stwierdzić, że mediana przeżycia całkowitego w tym nowotworze wzrosła jedynie o 3 miesiące.

Podjęcie przez doktorantkę tego trudnego, ale niezwykle aktualnego i ważnego z punktu widzenia klinicznego i społecznego tematu należy uznać za bardzo trafne i celowe.

Rozprawa doktorska lek. Julii Tuchalskiej-Czuroń w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im Mirosława J. Mossakowskiego PAN i w Klinice Chirurgii Gastroenterologicznej i Transplantologii CSKMSWiA i CMKP. Ten drugi ośrodek, kierowany przez Prof. dr hab. n.med Marka Durlika, w zakresie leczenia operacyjnego raka trzustki, należy do wiodących w Polsce

Rozprawa doktorska lek. Julii Tuchalskiej-Czuroń została przygotowana w formie spójnego tematycznie zbioru 3 artykułów opublikowanych w prestiżowych czasopismach naukowych. Pierwsza z nich, praca oryginalna nt „Is mitochondrial DNA copy number a good prognostic marker in resectable pancreatic cancer?” została opublikowana w *Pancreatology*, czasopiśmie o współczynniku oddziaływania 3,266. Kolejna praca, również oryginalna nt „Clinical value of tissue DNA integrity index in pancreatic cancer” ukazała się w czasopiśmie *Surgeon* o IF=2,134. Ostatnia praca, tym razem pogładowa, nt „ Ploidy and DNA index as prognostic factors in resected pancreatic ductal adenocarcinoma-a review of the literature” została opublikowana w bardzo popularnym wśród klinicystów czasopiśmie *Gastroenterology Review*. Łączna wartość współczynnika oddziaływania IF omawianych prac wynosi: 5,4.

Praca jest opatrzona własnym komentarzem, z załączonymi oświadczeniami Doktorantki i współautorów dotyczących określenia wkładu pracy. Wszystkie trzy prace stanowiące podstawę rozprawy zostały już opublikowane w latach 2014-2020, przeszły zatem wysoce wymagający proces recenzji i spełniły wysokie wymagania stawiane w renomowanych czasopismach naukowych, zarówno co do poziomu merytorycznego, jak i językowego oraz edytorskiego. Poziom tych trzech publikacji jest zatem bardzo wysoki.

Celem pracy była ocena użyteczności wybranych parametrów molekularnych, jako czynników prognostycznych u chorych z operacyjnym gruczolakorakiem przewodowym.

W pierwszej pracy badania mitochondrialnego DNA (mtDNA) były wykonywane z użyciem nowoczesnej metody ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (real- time PCR).

W materiale pooperacyjnym RT wykazano, że liczba kopii DNA jest istotnie niższa niż w zdrowej trzustce. Liczba kopii mitochondrialnego DNA wykazywała także zbieżność ze stopniem zróżnicowania histopatologicznego guza: obserwowano spadek względnej liczby kopii mitochondrialnego DNA wraz ze zmniejszaniem się stopnia zróżnicowania histopatologicznego. Nie stwierdzono różnicy w zakresie względnej liczby kopii mitochondrialnego DNA pomiędzy guzami R0 (brak komórek nowotworowych w odległości 1 mm od linii cięcia) i R1 (widoczna jedna lub więcej komórek raka w odległości 1 mm od linii cięcia). Na podstawie estymatora Kaplana-Meiera nie znaleziono jednak związku wartości tego parametru z czasem przeżycia chorych. Być może jednak udałoby się takie zbieżności znaleźć z innymi parametrami guza, jak jego stopień zaawansowania w klasyfikacji TNM lub indeks proliferacyjny Ki-67. Praca ta ma charakter nowatorski, bowiem po raz pierwszy oceniono względną liczbę kopii DNA mitochondrialnego w materiale pooperacyjnym RT i porównano tę wartość z uzyskaną w trzustce zdrowej. Ponadto, po raz pierwszy analizowano zbieżność względnej liczby kopii DNA z różnymi parametrami histopatologicznymi RT i z danymi klinicznymi, w tym z czasem przeżycia chorych.

Praca ta była finansowana z funduszy projektu KNOW (KNOW-17) Unii Europejskiej i Fundacji przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie.

W drugiej pracy Doktorantka analizowała użyteczność prognostyczną indeksu integralności DNA z zastosowaniem nowoczesnej metody ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (real- time PCR). Wartość prognostyczna tego parametru w wielu nowotworach złośliwych jest dobrze udokumentowana, zaś w RT-słabo poznana. Wykazała ona, że w materiale pooperacyjnym określonym , jako R1 indeks integralności DNA był istotnie wyższy niż w zdrowej trzustce. Przy punkcie odcięcia 0,9054, indeks integralności DNA pozwalał na różnicowanie guzów R1 i R0 oraz R1 od tkanki zdrowej z czułością 84,6%. Nie wykazano jednak zbieżności wartości tego indeksu z czasem przeżycia chorych. Jakkolwiek bardzo dokładnie przedstawiono dane na temat stopnia zaawansowania RT osób z grupy badanej w klasyfikacji TNM, to jednak nie podano, czy istniał związek tego zaawansowania z wartością indeksu integralności DNA (z wyjątkiem zajęcia węzłów chłonnych). Praca ta ma

walor nowości, ponieważ po raz pierwszy dokonano w niej oceny indeksu integralności DNA w materiale pooperacyjnym RT i porównano jego wartość w guzach po resekcji R0 i R1 oraz w tkance zdrowej trzustki. Ponadto, po raz pierwszy dokonano oceny zbieżności wartości indeksu integralności DNA i różnych parametrów histopatologicznych guza i danymi klinicznymi, w tym - czasem przeżycia.

Praca ta była finansowana z funduszy projektu KNOW (KNOW-17) Unii Europejskiej i Fundacji przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie.

Trzecia praca, pogładowa omawia wartość prognostyczną takich parametrów cytometrycznych, jak ploidia i indeks DNA u chorych na operacyjnym RT. Przedstawione badania wskazują, że indeks DNA oznaczany za pomocą cytometrii statycznej, ale nie przepływowej może być wartościowym czynnikiem prognostycznym tej choroby. Badania zostały poddane krytycznej ocenie, która wskazuje, że rozbieżności dotyczące wartości prognostycznych ploidii i indeksu DNA z zastosowaniem cytometrii przepływowej mogą być wynikiem zróżnicowanej i niedoskonałej metodyki badań. Analizowane badania zestawiono w czytelnych i dobrze zaprojektowanych tabelach.

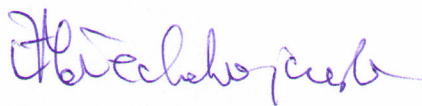
Rozprawa doktorska została opatrzona komentarzem Doktorantki, który został napisany poprawnym tekstem w sposób zwarty i przejrzysty. Przedstawia on najważniejsze tezy omawiane w pracach będących podstawą pracy doktorskiej, ich cele, wyniki i wnioski.

Prace te wpisują się w niezwykle aktualny i dynamicznie rozwijający się nurt tzw. medycyny lub nauki translacyjnej, dyscypliny badań biomedycznych, której celem jest przyspieszenie wykrycia nowych narzędzi diagnostycznych i prognostycznych, a także metod terapii, dzięki interdyscyplinarnemu podejściu. Jest to praktyka przenoszenia wiedzy naukowej „od stołu laboratoryjnego do łóżka chorego (ang. bench-to-bedside), wykorzystująca bezpośrednio postępy badań podstawowych w praktyce klinicznej. Badania Doktorantki są nowatorskie i mogą być źródłem inspiracji dla dalszych badań nad opracowaniem kolejnych biomarkerów RT, w tym z bardziej dostępnych materiałów biologicznych, jak krew i ślina.

Podsumowując, bardzo wysoko oceniam badania naukowe przeprowadzone w ramach przewodu doktorskiego lek. Julii Tuchalskiej-Czuroń, przedstawione w dwóch publikacjach o wysokim współczynniku oddziaływania. Doktorantka podjęła bardzo aktualną i istotną z punktu widzenia diagnostyki i prognozowania gruczolakoraka trzustki tematykę, wykazała się kompetencją w prowadzeniu badań i złożonych, nowoczesnych obliczeń statystycznych.

Wyniki pracy uważam za bardzo wartościowe, interesujące i bez wątpienia wnoszące wkład do nauki.

Przedstawiony w publikacjach materiał badawczy spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim, jak i wymagania ustawowe, określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Wnioskuje więc do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN o dopuszczenie lek. Julii Tuchalskiej-Czuroń do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoki poziom merytoryczny oraz imponujący zakres przeprowadzonych badań wnioskuje o wyróżnienie jej pracy.



Prof. dr hab. n med. Ewa Małecka- Wojcieszko