

Białystok, 08.12.2019

Ocena

lek. med. Małgorzata Malinowska

**Mikroskopowe i immunohistochemiczne czynniki prognostyczne oraz potencjalnie
predykcyjne w raku wczesnym żołądka**

Pomimo wciąż doskonalonych technik endoskopowych rak żołądka plasuje się w czołówce zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce. W wielu przypadkach to właśnie postęp diagnostyki endoskopowej spowodował wczesne jego wykrycie jak i możliwości leczenia niezaawansowanych raków żołądka. Wydłużenie 5-letniego czasu przeżycie wynosi 80 – 95% u chorych w stopniu pT1.

Niemniej jednak wyższy odsetek raków żołądka stanowią te o wysokim stopniu zaawansowania w momencie ich rozpoznania. Taki stan rzeczy jest kluczowy dla możliwości wyleczenia pacjenta. Znaczna ilość chorych w wysokim stopniu zaawansowania kwalifikowana jest do terapii paliatywnej. W tych przypadkach średni czas przeżycia wynosi około 13 miesięcy.

Dlatego też uważam, że wybór tematu pracy doktorskiej lek. Małgorzaty Malinowskiej jest w pełni uzasadniony, ciekawy i bardzo aktualny.

Przedstawiona mi do oceny praca ma typowy układ dla rozpraw doktorskich i została podzielona na dziewięć części: wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, podsumowanie wyników, wnioski, dyskusja, streszczenie oraz piśmiennictwo.

Rzetelnie napisany obszerny wstęp zajmuje strony od 7 do 45. Podzielony został na 6 części. W części pierwszej Doktorantka opisuje epidemiologię raka żołądka. Część druga zapoznaje nas ze stanami i zmianami przedrakowymi, czynnikami prognostycznymi, molekularnymi raka żołądka. Natomiast sposobom leczenia została poświęcona część 6

AKADEMIA MEDYCZNA W BIAŁYMSTOKU

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII OGÓLNEJ

15-269 Białystok, ul. Waszyngtona 13
e-mail: sekretariat_zpo.amb@op.pl

tel. i fax: (085) 748 59 96
centr. AMB (085) 748 54 00

wstępu, w której opisano najnowsze metody postępowania w leczeniu raka żołądka. Szeroko zaprezentowane w podrozdziale 1.5. czynniki predykcyjne przedstawiają nam klasyfikację z roku 2014 r. 4 podtypów raka żołądka w oparciu o cechy molekularne:

- genomowo stabilny (GS), zwykle diploidny; koreluje z rozlanym typem raka i zaburzeniami w obrębie genów *CDH1* i *RHOA*,

- z niestabilnością chromosomalną (CIN); charakteryzuje się ogniskową amplifikacją receptorów kinazy tyrozynowej, mutacją *TP53* i aneuploidą,

- z obecnością wirusa Epstein -Barra (EBV+); związany jest z wysokim poziomem hipermetylacji DNA, mutacją *PIK3CA* i amplifikacją *CD274* (PD-L1), *PDCD1LG2* (PD-L2) i *JAK2*,

- z niestabilnością mikrosatelitarną (MSI-dodatnie); cechuje go podwyższona częstość mutacji i obniżenie regulacji genu *MLH1*, który kodyfikuje białko MLH1 zaangażowane w naprawę niedopasowania (mismatch repair)(MMR).

Co niezmiernie ważne, że istota tej klasyfikacji przede wszystkim ma swoje odbicie w proponowanych nowych schematach leczenia. Chociażby włączenie terapii trastuzumabem w HER-2 dodatnich rakach żołądka.

Oceniając tę część rozprawy doktorskiej pragnę podkreślić, że świadczy ona o dużej wiedzy doktorantki o badanym zagadnieniu oraz o umiejętności posługiwania się literaturą naukową. Z pełnym przekonaniem mogę powiedzieć, że stanowi ona uzasadnienie podjęcia badań naukowych w tym zagadnieniu. Należy podkreślić słuszność celu badań które postawiła sobie Doktorantka.

Czyli analizę czynników prognostycznych i potencjalnie predykcyjnych w raku wczesnym żołądka w korelacji z metodą leczenia chirurgicznego. Poprzez zbadanie zależności pomiędzy:

1. stanem przedrakowym a rakiem wczesnym żołądka,
2. mikroskopowymi cechami raka a immunohistochemiczną ekspresją czynników adhezyjnych (E-kadheryna, beta-atenina),
3. mikroskopowymi cechami raka a immunohistochemicznymi markerami supresorowej (TP53, beta-catenina) i mutatorowej (MSH2) karcinogenezy,
4. zakresem operacji a mikroskopowymi cechami raka, immunohistochemiczną ekspresją czynników adhezyjnych i markerów supresorowej i mutatorowej karcinogenezy.

AKADEMIA MEDYCZNA W BIAŁYMSTOKU

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII OGÓLNEJ

15-269 Białystok, ul. Waszyngtona 13
e-mail: sekretariat_zpo.amb@op.pl

tel. i fax: (085) 748 59 96
centr. AMB (085) 748 54 00

Materiał i metodyka. Doktorantka badaniami objęła 104 chorych na raka żołądka leczonych chirurgicznie w Klinice Chorób Górnego Odcinka Układu Pokarmowego Centrum Onkologii-Instytutu im.M.Curie-Skłodowskiejw latach 1999-2005. Pacjentów podzielono na 2 grupy badawcze w zależności od stopnia zaawansowania raka, który określono na podstawie głębokości naciekania ściany żołądka. Pierwszą grupę stanowiło 50 chorych z rakiem wczesnym, u których nowotwór zajmował błonę śluzową i/lub podśluzową. Do drugiej grupy zaliczono 54 pacjentów z zaawansowanym rakiem żołądka, naciekającym co najmniej mięśniówkę właściwą żołądka. W badaniu mikroskopowym oceniono: typ histologiczny według klasyfikacji WHO i Laurena, stopień histologicznej dojrzałości raka (G), stopień kliniczno-patologicznego zaawansowania raka (pTNM), według 6 wydania klasyfikacji pTNM *AJCC/UICC*, z modyfikacją cechy pT w raku wczesnym, według klasyfikacji Japońskiego Towarzystwa Raka Żołądka, cechę N (węzły chłonne) określono podając ich całkowitą liczbę, liczbę węzłów chłonnych z przerzutami, naciekanie torebki węzłów i tkanek otaczających oraz obecność zatorów z komórek raka w naczyniach pozawęzłowych, stopień resekcyjności guza według klasyfikacji R na podstawie proksymalnego i dystalnego marginesu chirurgicznego, obecność zatorów z komórek raka w świetle naczyń chłonnych i krwionośnych w obrębie guza i poza nim, naciekanie przestrzeni okołonерwowych przez komórki raka.

Dodatkowo badano zmiany w błonie śluzowej żołądka poza guzem. Zaliczono do nich:

- zapalenie błony śluzowej żołądka z określeniem jego typu,
- metaplastję jelitową,
- gruczolaka,
- inne polipy niż gruczolak.

W każdym guzie oceniono immunoprofil metodą immunohistochemiczną (IHC) z użyciem określonego panelu przeciwciał: E-cadheryną (NCH-38, DAKO), β -cateniną (β -catenin-1, DAKO), TP53 (DO-7, DAKO, 1:50), MSH2 (G219-1129, Ventana).

Do analizy statystycznej lek. Małgorzata Malinowska zastosowała odpowiednie testy które pozwoliły jej uwzględnić ocenę badanych korelacji.

W rozdziale 4 wyniki w jasnych czytelnych zestawieniach tabelowych i kolumnowych przedstawiono charakterystykę badanych zagadnień. Rozdział zatytułowany wyniki zajmuje strony od 51 do 80 i w mojej ocenie jest napisany poprawnie a zamieszczone w nim ryciny dodają przejrzystości opracowaniu i pozwalają czytającemu w

AKADEMIA MEDYCZNA W BIAŁYMSTOKU

ZAKŁAD PATOMORFOLOGII OGÓLNEJ

15-269 Białystok, ul. Waszyngtona 13
e-mail: sekretariat_zpo.amb@op.pl

tel. i fax: (085) 748 59 96
centr. AMB (085) 748 54 00

prosty sposób śledzić poszczególne etapy analizy. Jednakże wzbogaciłabym je o fotografie uzyskanych reakcji z barwień immunohistochemicznych co w mojej ocenie uwierzytelniłoby całość wyników.

Rozdział 4.4 podsumowanie wyników na stronach 87 i 88 w 11 punktach przedstawia najważniejsze wyniki uzyskane przez Doktorantkę.

W dyskusji Doktorantka szczegółowo omawia uzyskane wyniki zapoznając nas z rezultatami innych autorów zajmujących się tymi problemami. Sposób przeprowadzenia dyskusji jest rzeczowy. Komentarz oceniający badania własne świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do pracy naukowej oraz umiejętności posługiwania się literaturą naukową. Przedstawione piśmiennictwo 247 pozycji obejmuje aktualną literaturę w zakresie badanego tematu.

Skrupulatnie przeprowadzone badania pozwoliły na wyciągnięcie czterech konstruktywnych wniosków.

1. Cechy makroskopowe, mikroskopowe i immunohistochemiczne raka wczesnego śluzówkowego różnią się w statystycznie istotny sposób od raka podśluzówkowego i zaawansowanego.

2. Na podstawie uzyskanych wyników wyłoniono dwa modele raka wczesnego żołądka.

a. Model I charakteryzuje się typem makroskopowym bez owrzodzenia (0-I, 0-IIa,b), typem histopatologicznym wysokozróżnicowanym (G1, G2), naciekaniem ograniczonym do błony śluzowej (rak śluzówkowy), immunohistochemicznie TP53 (-), MSH2 (-) – raki z niestabilnością mikrosatelitarną (MSI).

b. Model II charakteryzuje się typem makroskopowym z owrzodzeniem (0-IIc, 0-III), typem histopatologicznym niskozróżnicowanym (G3, ze słabą kohezją komórek, śluzowokomórkowy), naciekaniem błony podśluzówkowej (rak podśluzówkowy), immunohistochemicznie TP53 (+), MSH2 (+) – raki stabilne (MSS).

3. Uzyskane wyniki upoważniają do zaproponowania leczenia endoskopowego (wycięcia śluzówkowego i/lub podśluzówkowego) zmian przednowotworowych z dużą dysplazją i wybranych przypadków raka wczesnego.

4. Ostateczna decyzja co do wyboru metody leczenia, zabiegu endoskopowego czy operacji, nie może opierać się wyłącznie na badaniu patomorfologicznym, powinna być

A K A D E M I A M E D Y C Z N A w B I A Ł Y M S T O K U
ZAKŁAD PATOMORFOLOGII OGÓLNEJ

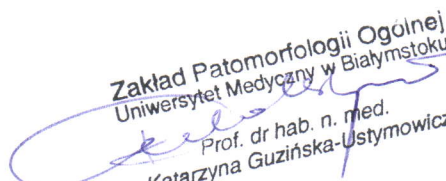
15-269 Białystok, ul. Waszyngtona 13
e-mail: sekretariat_zpo.amb@op.pl

tel. i fax: (085) 748 59 96
centr. AMB (085) 748 54 00

podjęta po łącznej analizie z obrazem endoskopowym i badaniach obrazowych, pozwalających ocenić kliniczny stopień zaawansowania nowotworu (cTNM).

Pomimo drobnych uwag i niedociągnięć, które domniemam Doktorantka poprawi, pracę oceniam wysoko. Lek. Małgorzata Malinowska postawiła sobie trudne niezmiernie ważne i potrzebne zadania badawcze, które w pełni zrealizowała odpowiadając na postawione sobie cele. Jednocześnie obiecujące rezultaty moim zdaniem powinny być impulsem do dalszej kontynuacji badań.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Małgorzaty Malinowskiej spełnia warunki określone w art. 13 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.595z późn.zm.) i zwracam się z prośbą do Rady Naukowej Centrum Onkologii-Institutu im. Marii Skłodowskiej –Curie w Warszawie o dopuszczenie lek. Małgorzaty Malinowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Zakład Patomorfologii Ogólnej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
Prof. dr hab. n. med.
Katarzyna Guzińska-Ustymowicz