

Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy
Oddział w Krakowie



UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU

30. 03. 2022

Dziekanat Wydziału Nauk o Zdrowiu

L.dz.

Dziekan
Wydziału Nauk o Zdrowiu

prof. dr hab. Alina Borkowska

Recenzja
pracy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu

magister Sylwii Szablewskiej

**pt. „Wartość predykcyjna poziomu limfocytów regulatorowych u
pacjentów z czerniakiem złośliwym skóry poddanych
radioterapii”**

Podjęcie przez Doktorantkę badań dotyczących wartości predykcyjnej poziomu limfocytów T regulatorowych (Treg) u chorych na czerniaki skóry poddanych radioterapii uważam za celowe i bardzo istotne. Uzyskane wyniki mogą być bowiem podstawą do prowadzenia dalszych badań dotyczących określenia czynników predykcyjnych odpowiedzi, nie tylko na radioterapię, ale przede wszystkim na leczenie systemowe, które jest obecnie jedną z najważniejszych form terapii u chorych na czerniaki.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Sylwii Szablewskiej posiada układ typowy dla rozpraw doktorskich. Na początku manuskryptu przedstawiony jest spis treści, wykaz użytych skrótów, a następnie praca składa się z ośmiu rozdziałów (rozdziały VII i VIII stanowią streszczenia w języku polskim i angielskim). Rozprawa obejmuje łącznie 66 strony wydruku,

df-s

1.

3 tabele i 13 rycin umieszczonych chronologicznie w tekście. Spis piśmiennictwa obejmuje łącznie 129 pozycji. Do manuskryptu dołączona jest również kopia zgody Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badania pt. „Wpływ melanizacji na odpowiedź na leczenie pacjentów z czerniakiem.”

We wstępie Doktorantka przedstawia dane epidemiologiczne dotyczące zachorowań czerniaki w Polsce i na świecie, a następnie charakterystykę i rolę limfocytów Treg. Dalej omówiony jest wpływ radioterapii na limfocyty Treg oraz jej rola w leczeniu chorych na czerniaki.

Doktorantka formuje trzy cele badawcze. Pierwszy dotyczy porównania zmian w odsetku limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- pomiędzy chorymi na czerniaki skóry i chorymi ze zmianami nienowotworowymi. Drugi ocenia zmianę odsetka limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- u chorych na czerniaka skóry poddanych radioterapii. Trzeci ocenia przeżycia chorych na czerniaka skóry poddanych radioterapii w odniesieniu do poziomu odsetka limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127-.

Badanie obejmowało 62 chorych, którzy zostali podzieleni na dwie grupy. Grupę badaną stanowiło 32 chorych na czerniaka skóry po zabiegu operacyjnym, którzy następnie zostali zakwalifikowani do radykalnej radioterapii na okolicę regionalnych węzłów chłonnych. Grupę kontrolną stanowiło 30 chorych, u których podejrzewano czerniaka skóry, ale po badaniu histopatologicznym usuniętej zmiany stwierdzono zmianę łagodną.

Wyniki obejmują:

- analizę porównawczą poziomu limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- u zdrowych i chorych – nie wykazano znamienności statystycznej,
- analizę porównawczą limfocytów T CD4+ u zdrowych i chorych – wykazano znamienność statystyczną,
- analizę porównawczą mediany wartości limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- przed i po radioterapii – stwierdzono wzrost mediany wartości po radioterapii, różnica znamienna statystycznie,
- analizę porównawczą mediany wartości limfocytów T CD4+ przed i po radioterapii – stwierdzono wzrost mediany wartości po radioterapii, różnica znamienna statystycznie,
- analizę przeżycia całkowitego w grupie chorych poddanych radioterapii – wykazano wydłużenie przeżycia całkowitego w grupie chorych, u których stwierdzono wzrost po radioterapii liczby Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- i równocześnie wzrost limfocytów CD4+ w porównaniu chorych niespełniających tych kryteriów.

BJS

Po przeanalizowaniu wyników badań Doktorantka wysunęła następujące wnioski:

- u chorych z klinicznie podejrzanymi o czerniaka zmianami na skórze wartość odsetka limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- nie może być czynnikiem predykcyjnym obecności choroby,
- chorzy na czerniaka skóry charakteryzujący się wzrostem odsetka limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- z jednoczesnym wzrostem liczby limfocytów T CD4+ po radykalnej radioterapii rokują korzystnej w odróżnieniu od chorych nie spełniających tych kryteriów,
- wzrost odsetka limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- może być związany z pozytywną odpowiedzią na leczenie i poprawą mediany przeżycia całkowitego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma znaczną wartość naukową, niemniej jednak recenzująca ma kilka uwag oraz pytań dotyczących przeprowadzonego badania.

1. W rozdziale III (Materiał i metody str. 32) przedstawiono kryteria włączenia do badania. Niestety są one nieprecyzyjne i wzajemnie się wykluczają. Jeśli przyjmiemy, że pomiędzy wymienionymi czynnikami jest spójnik „lub” to do badania mogłyby być zakwalifikowane wszystkie osoby powyżej 18 roku życia lub z potwierdzonym czerniakiem w badaniu histopatologicznym lub w stopniu zaawansowania T3-T4 N1-3 lub średnicą przerzutu > 3cm (ale jakiego przerzutu? do płuc? do wątroby?) itd. Jeśli natomiast zastosujemy spójnik „i” to kryteria włączenia stają się wręcz niemożliwe do spełnienia. Brakuje też informacji kiedy chorzy byli kwalifikowani do badania (lata). Bardzo proszę o przedstawienie precyzyjnych kryteriów włączenia do badania.
2. W rozdziale III (Materiał i metody str. 32) zawarto informację, że poziom limfocytów Treg w grupie chorych na czerniaka oznaczano przed rozpoczęciem radioterapii oraz po jej zakończeniu, natomiast w grupie kontrolnej (chorzy ze zmianami skórnymi nienowotworowymi) poziom limfocytów Treg był oznaczany przed rozpoczęciem leczenia, czyli przed usunięciem zmiany skórnej. Jeśli dobrze rozumiem poziom limfocytów Treg w grupie chorych na czerniaka był oznaczany po usunięciu zmiany pierwotnej oraz limfadenektomii z powodu zajętych węzłów chłonnych, czyli w momencie, kiedy teoretycznie chory nie miał aktywnej choroby nowotworowej. Czy w takim razie możemy porównywać te dwie grupy chorych? Czy wówczas uzasadniony jest wniosek, że u chorych z klinicznie podejrzanymi o czerniaka zmianami na skórze wartość odsetka limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- nie może być czynnikiem

BFS

predykcyjnym obecności choroby? Być może oznaczenie i porównanie liczby limfocytów Treg w obu tych grupach przed usunięciem zmiany skórnej (zanim stwierdzimy czy zmiana jest nowotworowa czy nie) dałoby inny wynik.

3. W rozdziale IV (Wyniki) brakuje charakterystyki badanych grup pod względem wieku, płci, zaawansowania choroby (grupa chorych na czerniaki) oraz wyników oznaczeń liczby limfocytów Treg. Proszę o uzupełnienie tych informacji.
4. W rozdziale IV (Wyniki, str. 38 i 40) pojawia się analiza porównawcza odsetka limfocytów T CD4+ proszę o wyjaśnienie celowości i przydatności wykonania analiz ilości tych limfocytów. Nie są one ujęte w celach pracy.
5. W rozdziale IV (wyniki, strona 41-43) przedstawiona jest analiza przeżycia całkowitego chorych na czerniaki w zależności od spadku lub wzrostu odsetka limfocytów Treg CD4+ CD25+ CD127- łącznie z limfocytami CD4+ po radioterapii. Bardzo proszę o wyjaśnienie dlaczego analizowano razem limfocyty Treg i CD4+? W celu pracy jest zaznaczone, że analizowane są limfocyty Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127-. Tymczasem takie obliczenia nie zostały przedstawione. Pragnę również zaznaczyć, że w prezentowanej pracy nie analizowano również odpowiedzi na leczenie. Wydaje się, że wyciągnięcie wniosku przez Doktorantkę, że wzrost odsetka limfocytów Treg o fenotypie CD4+ CD25+ CD127- może być związany z pozytywną odpowiedzią na leczenie i poprawą mediany przeżycia całkowitego jest trochę na wyrost.
6. W rozdziale IV (wyniki, strona 41-43) pojawiają się również informacje o czasie przeżycia całkowitego (OS) oraz czasie wolnym od progresji choroby (PFS). Proszę o wyjaśnienie jak liczono OS i PFS, co było punktem początkowym, a co końcowym (nie ma tej informacji w opisie materiał i metody). Proszę również o przedstawienie definicji PFS. W przypadku tej analizy skłaniałabym się do użycie terminu czas wolny od nawrotu (DFS).
7. W analizie brakuje również informacji na temat rodzaju terapii systemowej jaka została zastosowana u chorych w przypadku nawrotu choroby. Zastosowanie leczenia immunologicznego (inhibitorów punktów kontrolnych) oraz leczenia ukierunkowanego molekularnie (inhibitory BRAF i MEK) mogło mieć znaczący wpływ na OS. Może to też być wyjaśnieniem tak zaskakujących wyników w prezentowanej pracy.
8. Pragnę również zwrócić uwagę, że nie stosuje się już terminu „czerniak złośliwy”, ponieważ czerniak z definicji jest nowotworem złośliwym.
9. We wstępie pracy przedstawiono również szereg rycin, które mają obrazować działanie układu immunologicznego oraz limfocytów. Doktorantka nie wykonała jednak tłumaczenia opisów rycin na język polski.

df-s

10. Należy również zauważyć, że w pracy jest dużo błędów interpunkcyjnych, stylistycznych i gramatycznych, jak również nie zawsze jasno wyjaśnione są skróty znajdujące się w wykazie skrótów (str. 4-5). Powoduje to, że praca jest dość trudna w odbiorze.

Sumując, należy podkreślić, że w przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej zawarty został unikalny materiał. Dyskusja jest napisana w sposób metodyczny i uwzględnia publikacje w zakresie analizowanej tematyki. Doktorantka dobrze omawia znaczenie uzyskanych wyników w aspekcie klinicznym. Streszczenia w języku polskim i angielskim napisane są w sposób prawidłowy.

Pomimo moich uwag i zastrzeżeń, stwierdzam, że rozprawa doktorska przygotowana przez panią mgr Sylwię Szablewską pt. „Wartość predykcyjna poziomu limfocytów regulatorowych u pacjentów z czerniakiem złośliwym skóry poddanych radioterapii” pod kierunkiem promotora prof. dr. hab. Krzysztofa Roszkowskiego spełnia warunki określone w art. 13 ust 1. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. z 2017 r. poz.1989) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną w prezentowanej dyscyplinie oraz posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

W związku z powyższym przedkładam Radzie Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Collegium Medicum w Bydgoszczy wniosek o dopuszczenie mgr Sylwii Szablewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 20.03.2022

dr hab. n. med. Bożena Cybulska-Stopa

bcybulskastopa@vp.pl

