

UNIWERSYTET MEDYCZNY im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
KATEDRA I KLINIKA PERINATOLOGII I GINEKOLOGII
ul. Fredry 10, POZNAŃ

Prof. dr hab. med. Mariola Ropacka-Lesiak

Poznań, 30.10.17r.

Ocena rozprawy doktorskiej lekarz Karoliny Popławskiej-Domasiewicz

pt.

**„Immunologiczna odpowiedź humoralna przeciw antygenom układu nerwowego
a neurologiczne zespoły paranowotworowe u chorych na nowotwory endometrium”**

**„Immune response against neural antigens and paraneoplastic neurological syndromes
in endometrial cancer patients”**

Pomimo systematycznego postępu w rozwoju metod diagnostycznych wczesne wykrywanie i leczenie nowotworów złośliwych nadal stanowi jedno z najtrudniejszych wyzwań onkologii klinicznej. Rak endometrium lub inaczej rak trzonu macicy (łac. carcinoma endometrium, ang. endometrial cancer), a dokładniej rak błony śluzowej trzonu macicy, jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym umiejscowionym w obrębie trzonu macicy. Badania wskazują, że ten nowotwór jest czwartym pod względem zachorowalności nowotworem złośliwym występującym u kobiet w wieku 55-70 lat.

Jedynie 10-15% przypadków raka endometrium dotyczy osób przed menopauzą. Rak endometrium jest nowotworem hormonozależnym. W etiologii raka trzonu macicy istotną rolę odgrywa długotrwała stymulacja endometrium przez estrogeny, zwłaszcza przy współistniejącym niedoborze hormonów antagonistycznych – progesteronu i innych gestagenów. Dzieje się tak zwykle u kobiet otyłych, w okresie około- i postmenopauzalnym, kiedy to w jajnikach utrzymuje się produkcja androstendionu, a zanika wydzielanie progesteronu i estrogenów. Androstendion w tkance tłuszczowej ulega przemianie do estronu i stymuluje błonę śluzową. Ciągła i niekontrolowana stymulacja endometrium prowadzi do uszkodzeń nabłonka i zablokowania prawidłowych czynności komórek. Nadmierne podziały nabłonka gruczołowego błony śluzowej macicy prowadzą do powstawania patologicznych rozrostów gruczołów endometrium. Wśród nich najbardziej niebezpieczne są rozrosty z nieprawidłową budową komórek mogących transformować komórki nowotworowe. Badania naukowe wskazują, że produkcja estronu u otyłych kobiet może być do 20 razy większa, niż u kobiet szczupłych i młodych. Do bezpośrednich czynników ryzyka zalicza się m.in.: otyłość w wieku 50-59 lat, późną menopauzę, cukrzycę, nadciśnienie tętnicze, brak potomstwa, występowanie cykli bezowulacyjnych, hiperestrogenizm endo- i egzogeny, zespół policystycznych jajników, długotrwałe leczenie tamoksifenem z powodu raka sutka oraz uwarunkowania genetyczne. Statystyki wskazują, że około 20% nawracających krwawień w wieku po menopauzie jest związane z nowotworem endometrium.

Neurologiczne zespoły paraneoplastyczne są to neurologiczne powikłania chorób nowotworowych, które nie wynikają z obecności samego guza, bądź jego przerzutów, ani nie są skutkiem zaburzeń metabolicznych, naczyniowych, powikłań infekcyjnych i jatrogennych. Mechanizmy patogenetyczne powstawania przeciwciał onkoneuronalnych nie zostały do końca poznane. Prawdopodobnie komórki guza prezentują antygeny, które poza tym występują tylko w neuronach, a powstające przeciwciała przeciwko tym antygenom wraz z cytotoksycznymi komórkami T atakują i niszczą neurony oraz są przyczyną występowania objawów neurologicznych. Pozytywny wynik badania autoprzeciwciał onkoneuronalnych może sugerować proces nowotworowy leżący u podłoża zaburzeń neurologicznych, natomiast leczenie guza prowadzi do poprawy stanu klinicznego i (czasem częściowego) ustąpienia zaburzeń neurologicznych. Paraneoplastyczne zespoły neurologiczne charakteryzują się rzadkim występowaniem, podoстрыm przebiegiem, a objawy neurologiczne są obserwowane nawet 3-4 lata przed zdiagnozowaniem guza i mogą dotyczyć różnych struktur układu nerwowego. Wiadomo, że występowanie przeciwciał onkoneuronalnych może o kilka miesięcy, a nawet lat, wyprzedzać pojawienie się innych objawów choroby nowotworowej. Podkreśla się, że zaburzenia neurologiczne i pozytywny wynik badania autoprzeciwciał pozwalają na szybsze postawienie właściwej diagnozy nawet, jeśli wyprzedzają objawy wynikające z obecności nowotworu.

Dlatego też, pacjentom z pozytywnymi wynikami badań serologicznych należy zaproponować szczegółową diagnostykę w kierunku skrycie przebiegającej choroby nowotworowej.

Podstawowym celem przedstawionej mi do recenzji pracy była analiza wartości diagnostycznej odpowiedzi humoralnej skierowanej przeciw antygenom układu nerwowego u chorych na nowotwory endometrium.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. med. Popławskiej-Domasiewicz jest w całości poświęcona poszukiwaniu wartości diagnostycznej immunologicznej odpowiedzi humoralnej przeciw antygenom układu nerwowego oraz neurologicznym zespołom paranowotworowym u chorych na nowotwory endometrium. Rozprawa jest monografią, która przedstawia wyniki badań dotyczących występowania przeciwciał onkoneuronalnych u chorych na raka endometrium. Przedstawiona do recenzji praca analizuje bardzo szeroko wartość diagnostyczną odpowiedzi humoralnej skierowanej przeciw antygenom układu nerwowego u chorych na ten typ nowotworu. Zagadnie to budzi żywe zainteresowanie ze względu na nadal niewystarczającą wiedzę w tym zakresie, jak i brak wyczerpujących, szczegółowych opracowań dotyczących zarówno diagnostyki, jak i potencjalnego postępowania terapeutycznego. Mimo badań, które można znaleźć w literaturze, istnieje wiele niejasności w odniesieniu do precyzyjnej diagnostyki występowania przeciwciał onkogennych w raku endometrium ze względu na ograniczoną liczbę badań. Z tego też powodu tematyka badań, którą podjęła Doktorantka jest niezwykle ważna, uzasadniona merytorycznie oraz istotna z punktu widzenia klinicznego oraz praktycznego. Podjęcie tego tematu przez Doktorantkę uważam za bardzo aktualne i wpisujące się w światowe tendencje w tym zakresie.

Oceniana praca liczy 138 stron, składa się z typowych rozdziałów oraz 296 pozycji piśmiennictwa. Praca zawiera wszystkie elementy, które z formalnego punktu widzenia, powinny wejść w skład rozprawy doktorskiej, w tym przegląd stanu wiedzy, sformułowanie celu pracy oraz zakresu rozpatrywanych w niej zagadnień badawczych, opisy sposobów ich rozwiązania, wyników badań, ich omówienie oraz wnioski. Rozważania prowadzone są konsekwentnie i przy zachowaniu właściwych proporcji w ujmowaniu wyżej wymienionych elementów. Materiał opracowany jest starannie i wskazuje na bieżące śledzenie przez Autorkę zagadnień związanych z tematyką badań.

Cel pracy jest jasno sprecyzowany i przedstawiony w postaci czterech punktów. Autorka koncentruje się na analizie obecności dokładnie określonych przeciwciał onkoneuronalnych oraz wykrywaniu przeciwciał onkoneuronalnych nie określonych dokładnie. Ponadto Doktorantka postawiła sobie za zadanie ocenę częstości występowania deficytu neurologicznego u chorych na nowotwory endometrium oraz określenie częstości występowania neurologicznych zespołów paranowotworowych u tych chorych. Dodatkowo celem badania było porównanie profilu klinicznego

z odpowiedzią humoralną oraz obrazem klinicznym neurologicznych zespołów paranowotworowych u chorych na raka piersi.

We wstępie Autorka wszechstronnie omawia zagadnienia dotyczące mechanizmów immunologicznej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Szczegółowo opisuje neurologiczne zespoły paranowotworowe, w tym także patomechanizmy rozwoju tych zespołów. Wyczerpująco omawia etiologię raka endometrium i związane z nim neurologiczne zespoły paranowotworowe. Ponadto we wstępie uwzględniono przegląd piśmiennictwa dotyczący raka piersi i związane z nim neurologiczne zespoły paranowotworowe. Zaprezentowano również współczesne możliwości leczenia tych zespołów. Wstęp jest opracowany starannie i wskazuje na bieżące śledzenie przez Autorkę zagadnień związanych z tematyką badań.

Rozdział dotyczący metodyki badań zawiera charakterystykę pacjentów. Do grupy badanej zakwalifikowano 75 pacjentek z rakiem endometrium. Do grupy porównawczej zakwalifikowano 22 pacjentki z rakiem piersi. W dalszej części rozprawy Autorka opisuje szczegółowo analizowane parametry. W dysertacji Autorka analizuje obecność przeciwciał onkoneuronalnych, antyneuralnych oraz przeciw antygenom nukleosomu za pomocą badania immunofluorescencji pośredniej, jako testu przesiewowego, oraz weryfikuje wyniki dodatnie testem Line - blot. Kolejnym etapem badania było zebranie danych 2,5 roku po ocenie kwalifikacyjnej będącej podstawą do włączenia chorych do badania. Zbieranie danych odbywało się telefonicznie. Zakres obejmował informacje dotyczące samopoczucia chorych, występowania nowych objawów ze strony układu nerwowego, sprawności, przebytego w okresie obserwacji leczenia, rozpoznania nowych nowotworów oraz regularności kontroli ginekologicznej.

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono czytelnie na 138 stronach, w 32 tabelach oraz na 4 rycinach. Rozdział wyniki obejmuje wyniki badań uzyskanych trakcie analizy grupy pacjentek z rakiem endometrium oraz rakiem piersi. Doktorantka wykazała różnice w profilu neurologicznym zespołów paranowotworowych oraz w spektrum humoralnej odpowiedzi immunologicznej u chorych na raka endometrium i raka piersi. W prezentowanej pracy przeciwciała onkoneuronalne Doktorantka stwierdziła u 2 chorych z rakiem endometrium i u 5 z rakiem piersi. Przeciwciała onkoneuronalne, ze względu na to, że mogą wyprzedzać rozpoznanie pierwotnego nowotworu złośliwego o kilka miesięcy lub lat, wydają się być wartościowym elementem uzupełniającym wczesną diagnostykę nowotworową. Jednak w literaturze istnieją doniesienia, że u ok. 20% chorych, pomimo potwierdzonej obecności przeciwciał onkoneuronalnych i rozpoznanego neurologicznego zespołu paranowotworowego, nie stwierdza się żadnych wykładników rozwijającego się nowotworu złośliwego. Warto również podkreślić, że u jednej trzeciej chorych pomimo występowania objawów ze strony układu nerwowego nie stwierdza się obecności przeciwciał onkoneuronalnych. Natomiast niewątpliwie identyfikacja przeciwciał onkoneuronalnych ma znaczenie rokownicze dla chorych z

potwierdzonym nowotworem złośliwym. Na okres przeżycia ma również wpływ stan neurologiczny chorego, u którego wykryto przeciwciała onkoneuronalne oraz oczywiście rodzaj nowotworu.

Jednak w aspekcie wczesnej diagnostyki onkologicznej najistotniejszym wydaje się być fakt występowania przeciwciał już na etapie wczesnego nowotworzenia. Potwierdzają to wyniki prezentowanej przez Autorkę pracy, w której wykazano, że w dwóch przypadkach, przeciwciała onkoneuronalne były stwierdzane na wczesnym etapie nowotworzenia.

Należy tu również przytoczyć wyniki pracy europejskiej grupy ekspertów z 2011 roku, która opublikowała rekomendacje w zakresie poszukiwania pierwotnego nowotworu u chorych z neurologicznymi zespołami paranowotworowymi. Stwierdzono, że przede wszystkim rodzaj przeciwciała, a w mniejszym stopniu zespół objawów klinicznych, określa ryzyko i typ pierwotnego nowotworu. Zwrócono również uwagę na fakt, że większość neurologicznych zespołów paranowotworowych nie jest związana z jednym, specyficznym przeciwciałem, a równoczesne oznaczanie wielu przeciwciał zwiększa szansę i skraca czas wykrycia nowotworu.

W prezentowanej dysertacji Doktorantka przedstawia wyniki szczegółowej oceny przeciwciał antyneuralnych oraz przeciw antygenom nukleosomu. W grupie kobiet z rakiem endometrium u 12 stwierdzono przeciwciała przeciw antygenom nukleosomu, a u 16 antyneuralne. U chorych na raka piersi, odpowiednio u 6 oraz u 4 pacjentek.

W przedstawionej do recenzji pracy w grupie pacjentek z rakiem endometrium spośród antygenów antyneuralnych najczęściej stwierdzano przeciwciała przeciw mielinie i anty – MAG. Przeciwciała te były związane z zaburzeniami ze strony obwodowego układu nerwowego i z zespołem górnego neuronu ruchowego. Natomiast u chorych na raka piersi najczęściej wykrywano anty-MAG i anty-*neuroendotelium*, które związane były z neuropatią i miopatią. Obecność przeciwciał antyneuralnych stwierdzano również u chorych na raka endometrium i na raka piersi bez objawów ze strony układu nerwowego.

Doktorantka wykazała, że obecność przeciwciał antyneuralnych u chorych na nowotwory endometrium i raka piersi nie różniła się między grupami. Może to świadczy o ich niespecyficznym charakterze w odniesieniu do badanych nowotworów. Można również domniemywać, że są one raczej związane ze stymulacją odpowiedzi humoralnej w przebiegu choroby nowotworowej jako takiej.

Uważa się, że stwierdzenie obecności autoprzeciwciał towarzyszących deficytom neurologicznym, rozwijającym się w przebiegu choroby nowotworowej, ułatwia podejmowanie decyzji terapeutycznych. Ich częstość występowania uzależniona jest od typu nowotworu. W prezentowanej pracy wykazano, że ryzyko wystąpienia autoprzeciwciał u chorych na nowotwory endometrium było niższe, niż u chorych na raka piersi. Jak dotąd przeprowadzono niewiele badań klinicznych analizujących występowanie przeciwciał oraz zespołów paranowotworowych u chorych na raka endometrium, jak również oceniających skuteczność leczenia neurologicznych zespołów

paranowotworowych.

Ponadto Autorka podjęła również zadanie oceny deficytu neurologicznego, który stwierdzany był częściej u pacjentek z rakiem endometrium. Deficyt neurologiczny związany był z obwodowym układem nerwowym (neuropatia/ polineuropatia).

Na uwagę zasługuje również fakt, że stwierdzenie obecności autoprzeciwciał, przeciwciał antyneuralnych lub onkoneuralnych nie było uzależnione od stopnia zaawansowania, ani stopnia złośliwości nowotworu endometrium, a najczęściej występowały u chorych z niskim stopniem zaawansowania raka endometrium (przede wszystkim w przebiegu gruczolakoraka endometrialnego). Deficyt neurologiczny związany był z niskim stopniem zaawansowania klinicznego, ale wysokim stopniem złośliwości raka endometrium.

Uzyskane przez Autorkę wyniki zostały poddane wnikliwej analizie oraz krytycznej ocenie. Przedstawione w pracy wnioski oparte są na rzetelnych wynikach przeprowadzonych badań i w pełni odpowiadają założonemu celowi pracy.

W dyskusji Autorka w sposób bardzo przemyślany i rozważny porównuje otrzymane wyniki z badaniami przeprowadzonymi przez innych autorów, analizując wybrane w pracy parametry. Dyskusja jest uporządkowana, konsekwentna i rzeczowa. W sposób czytelny i przejrzysty przedstawia współczesne możliwości diagnostyki w omawianym zakresie.

Na uwagę zasługuje fakt, że czasami trudno jest się odnieść w dyskusji do wyników innych autorów, ponieważ badania Doktorantki są w tej dziedzinie nowatorskie.

Rezultaty badań Doktorantki mają ważne implikacje kliniczne. Rozpoznanie neurologicznych zespołów paranowotworowych może przyczynić się do wczesnego wykrycia pierwotnego nowotworu narządów płciowych żeńskich. W związku ze złożonością procesów patofizjologicznych w chorobie nowotworowej Doktorantka skupiła się głównie na ocenie występowania nie tylko dokładnie określonych typów przeciwciał onkoneuralnych, ale również antyneuralnych oraz przeciwko antygenom nukleoplazmy. Nie bez znaczenia jest także stwierdzenie obecności przeciwciał antyneuralnych oraz przeciw antygenom nukleosomu u kobiet z objawami ze strony obwodowego układu nerwowego, które powinno stanowić wskazanie do przeprowadzenia diagnostyki w kierunku obecności nowotworu narządów płciowych. Nie można również pominąć zaprezentowanego przez Doktorantkę stanowiska, że w przypadku rozpoznanego nowotworu endometrium i występowania objawów neuropatii lub polineuropatii analiza obecności autoprzeciwciał może być pomocna w podjęciu decyzji o leczeniu immunomodulującym. Znajomość tych faktów jest niezbędna dla każdego lekarza zarówno neurologa, jak i ginekologa. Warto także zauważyć, że znaczny odsetek zgonów z powodu powikłań neurologicznych, podkreśla wagę prawidłowego rozpoznawania i leczenia PNS. Właściwa diagnoza w oparciu o rodzaj dysfunkcji neurologicznej oraz stwierdzenie obecności

przeciwciał onkoneuronalnych pozwala wybrać optymalną terapię onkologiczną, a tym samym zmniejszyć współczynnik umieralności i poprawić jakość życia leczonych kobiet.

Ponadto na podkreślenie zasługuje fakt, że w dostępnym piśmiennictwie niewiele jest opracowań dotyczących analizowanych w pracy parametrów u pacjentek z rakiem endometrium, co, jak już wcześniej wspomniano, podkreśla nowatorski charakter pracy.

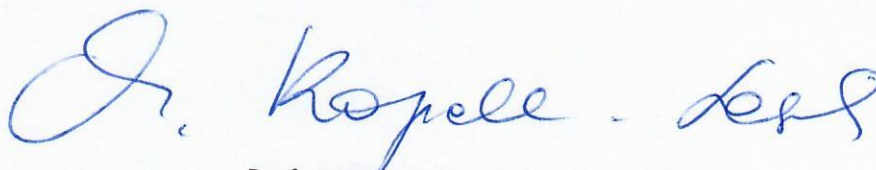
Opiniowaną rozprawę zamykają wnioski w liczbie 4, które stanowią pełną odpowiedź na postawione cele.

Piśmiennictwo przedstawione w pracy zawiera 296 pozycji stanowiąc spis aktualnych badań naukowych na temat immunologicznej odpowiedzi humoralnej przeciw antygenom układu nerwowego oraz neurologicznych zespołów paranowotworowych u chorych na nowotwory, w tym nowotwory endometrium. Osiemdziesiąt cztery pozycje pochodzą z roku 2010 lub z lat późniejszych. Dobór piśmiennictwa świadczy o fakcie, że Autorka na bieżąco analizuje aktualną literaturę wychwytyując najnowsze doniesienia.

Praca napisana jest poprawnym językiem, staranna edytorsko i stylistycznie. Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na pojedyncze błędy edytorskie i stylistyczne pojawiające się w przedstawionej pracy, dotyczące głównie redakcyjnej strony pracy i sądzę, że z łatwością zostaną poprawione przy przygotowaniu pracy do publikacji.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska lekarz Karoliny Popławskiej-Domasiewicz pt. „Immunologiczna odpowiedź humoralna przeciw antygenom układu nerwowego a neurologiczne zespoły paranowotworowe u chorych na nowotwory endometrium” stanowi jej osobiste, twórcze i rzetelne osiągnięcie wymagające poznania szeregu zagadnień medycznych i pozwala na wyciągnięcie praktycznych wniosków. Należy z naciskiem stwierdzić, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki własne są w skali piśmiennictwa światowego istotne i oryginalne, co podkreśla znaczenie niniejszej rozprawy dla stanu wiedzy w tym zakresie. A przedstawione w pracy wyniki warte są niewątpliwie rozpowszechnienia w literaturze o zasięgu międzynarodowym.

W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lekarz Karoliny Popławskiej-Domasiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. med. Mariola Ropacka-Lesiak