

dr hab. med. Szczepan Cofta
Katedra i Klinika Pulmonologii,
Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Poznań, 23 października 2016 roku

RECENZJA ROZPRAWY

na stopień doktora nauk medycznych

lek. Joanny Rybackiej - Mossakowskiej

Ocena znaczenia czynników neurotroficznych w rozwoju powikłań

chemioterapii

w obrębie układu nerwowego

**(The significance of neurotrophic factors in neurological complications
of chemotherapy)**

Promotor

Dr hab.n. med. Sławomir Michalak

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego

w Poznaniu

Jednym z podstawowych wyzwań współczesnej medycyny jest optymalizacja postępowania dotyczącego pacjentów z chorobami nowotworowymi. Wśród metod leczenia chemioterapia odgrywa niezwykle istotną rolę, której skuteczność ulega – na naszych oczach – w obszarach wielu typów nowotworów – znaczącej poprawie.

Istotnym ograniczeniem chemioterapii pozostaje toksyczność dotycząca układu nerwowego. Niemalże każdy dostępny chemioterapeutyk może powodować powikłania w tym zakresie. Objawy powikłań mają różne oblicza, w miarę wpływu

czasu mogą nie ustępować, a nawet nasilać się wiele miesięcy, czy lat po zakończeniu leczenia.

Prowadzone współcześnie prace badawcze ogniskują się wokół problemu mechanizmów powstawania oraz możliwości przeciwdziałania lub leczenia powikłań chemioterapii w obrębie układu nerwowego.

Potencjalnie korzystny wpływ czynników neurotroficznych w chorobach demielinizacyjnych i neurodegeneracyjnych oraz dwoistość natury ich oddziaływania w przebiegu choroby nowotworowej stał się podstawą i motywacją dla podjęcia przedstawianych badań. Jak dotąd nie zostało bowiem poznane znaczenie neurotrofin w kontekście powikłań chemioterapii, szczególnie w obrębie układu nerwowego.

Czynniki te spełniają funkcje regulatorowe procesów różnicowania, wzrostu oraz przeżycia neuronów, jednakże ich działanie w przebiegu chorób nowotworowych, a szczególnie w kontekście neurotoksycznego wpływu chemioterapii, nie zostało poznane. Sugeruje się, że mogą one być zaangażowane w powstawanie przerzutów, wzrost komórek guza i angiogenezę wpływając na przebieg choroby nowotworowej i rokowanie. Przedstawiana praca wpisuje się w ten twórczy nurt badań.

Niezwykłe godnym uwagi i poparcia jest więc wybór przez Doktorantkę tematyki i podjęcie oceny znaczenia czynników neurotroficznych w rozwoju powikłań dotyczących układu nerwowego.

Ocena rozprawy

Przedstawiona do oceny rozprawa ma postać wydruku komputerowego. W układzie typowym obejmuje: wstęp, określenie celu pracy, przedstawienie pacjentów oraz metodyki, wyniki, dyskusję. Zakończona jest przedstawieniem wniosków, streszczeniami w języku polskim i angielskim. Umieszczono również spis piśmiennictwa, załączniki, wykaz stosowanych skrótów, spis rycin oraz tabel.

W spisie piśmiennictwa znajduje się 231 pozycji, zasadniczo niemalże wszystkie w języku angielskim.

Układ pracy jest typowy, konstrukcja przejrzysta, a poszczególne jej części wydają się pozostawać we właściwych proporcjach. Rozprawę zilustrowano 42 tabelami, 18 rycinami oraz 8 tabelami. Praca zawiera ponadto 2 załączniki. Napisana jest poprawnie stylistycznie, bez uchybień językowych, a tabele, ryciny oraz załączniki w istotny sposób przyczyniają się do łatwiejszego zrozumienia jej treści.

We wstępie Doktorantka ukazała wpływ chemioterapii na układ nerwowy; zarówno powikłania w obrębie obwodowego, jak i ośrodkowego układu nerwowego. Dokonała syntetycznego przedstawienia neurotoksycznych chemioterapeutyków, jak również ukazania znanych mechanizmów uszkodzenia układu nerwowego w przebiegu chemioterapii. Wstęp został zakończony ukazaniem fizjologicznego znaczenia czynników neurotroficznych, będących małymi polipeptydami należące do czynników wzrostu, spełniającymi funkcje regulatorowe procesów różnicowania, wzrostu oraz przeżycia neuronów.

Cel pracy, którym była ocena znaczenia czynników neurotroficznych w rozwoju powikłań chemioterapii w obrębie układu nerwowego, został jasno sformułowany.

Do badania włączono osoby z rozpoznaną chorobą nowotworową. Badanie objęło 133 chorych, wśród których znalazło się 110 chorych na nowotwory płuc, 12 chorych na raka piersi oraz 11 chorych na raka jelita grubego. Chorych badano neurologicznie przed włączeniem chemioterapii i po 6 miesiącach leczenia. Ponadto przeprowadzano ocenę sprawności chorych za pomocą zobiektywizowanych testów neuropsychologicznych. Po włączeniu do badania pobierano krew pełną w celu uzyskania surowicy i oznaczano obecność przeciwciał onkoneuralnych i antyneuralnych oraz krew heparynizowaną w celu izolacji jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMC, ang. peripheral blood

mononuclear cells). Ekspresję neurotrofin NGF, BDNF, NT3 i NT4 oznaczano metodą ELISA.

W przedstawianej pracy oceniano odchylenia w badaniu neurologicznym stwierdzano dotyczące obwodowego oraz ośrodkowego układu nerwowego. Wśród objawów dominowała neuropatia czuciowa i czuciowo-ruchowa. Po 6 miesiącach u 50% badanych chorych stwierdzono nowe objawy w badaniu neurologicznym, wśród których dominowała neuropatia czuciowo-ruchowa i zespół mózdkowy. W badaniu czasu reakcji prostej u chorych na nowotwory stwierdzano jego wydłużenie w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast po 6 miesiącach obserwacji – wydłużenie dotyczyło tylko przy krótszych i dłuższych czasów stymulacji. Wyniki oceny czasu reakcji z wyborem zarówno przy włączaniu do badania, jak i po 6 miesiącach obserwacji u chorych na nowotwory były gorsze niż w grupie kontrolnej.

Wykazano dodatnią korelację ekspresji NGF w PBMC z wynikiem oceny w TMT-A wykonanym przy pierwszej wizycie oraz wynikiem w skali depresji Hamiltona przy pierwszej wizycie, jak i po zakończeniu leczenia. Ekspresja NT4 w PBMC korelowała dodatnio z wynikami oceny czasu reakcji prostej po stymulacji 1250M, korelowała również dodatnio z wynikami w oceny czasu reakcji z wyborem przy pierwszej wizycie i po zakończeniu leczenia, ze średnim czasem reakcji z wyborem badanym po 6 miesiącach obserwacji oraz ujemnie z wynikami testu powtarzanie cyfr przy włączaniu do badania, a dodatnio po 6 miesiącach obserwacji. Ponadto ekspresja NT3 w PBMC korelowała dodatnio z wynikami w skali depresji Hamiltona po zakończeniu leczenia.

Autoprzeciwciała wykryto u 36% chorych, a u 23% były to przeciwciała antyneuralne. Przeciwciała onkoneuronalne (anty-Hu, anty-Ma/Ta) wykryto u 3% chorych. U 12 % chorych wykryto przeciwciała przeciw antygenom nukleosomu, a w 5% przypadków obserwowano współistnienie przeciwciał (anty-nukleosom + anty-GFAP, anty-nukleosom + anty-mielina; anty-GFAP + anty-neuroendothelium). U chorych z autoprzeciwciałami niezależnie od ich rodzaju

częściej występowały objawy ze strony układu nerwowego przy włączaniu do badania.

Zahamowanie ekspresji NT4 w PBMC związane jest z wystąpieniem nowych objawów ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji. Natomiast obecność przeciwciał antyneuralnych związana jest z całkowitym zahamowaniem ekspresji NT3 w PBMC. Oceniając czynniki wpływające na obecność autoprzeciwciał u chorych na nowotwory w modelu regresji wielorakiej obejmującym wiek, ekspresję BDNF, NGF, NT3 i NT4 wykazano, że obniżenie ekspresji NT4 i NGF wiąże się z odpowiedzią humoralną.

W modelu regresji wielorakiej obejmującym wpływ wieku, obecności autoprzeciwciał, oceny w teście MMSE, TMT-A i B, ekspresję BDNF, NGF, NT3 i NT4 na występowanie deficytu neurologicznego przy włączaniu chorych do badania wiek był niezależnym czynnikiem. Natomiast w modelu regresji wielorakiej obejmującym wpływ wieku, obecności autoprzeciwciał, oceny w teście MMSE, TMT-A i B, ekspresji BDNF, NGF, NT3 i NT4 na wystąpienie nowych objawów ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji – NT4 okazała się być niezależnym czynnikiem, którego niedobór w PBMC wpływał na wystąpienie nowych objawów w przebiegu chemioterapii.

W przedstawianej pracy zaprezentowano wnikliwą dyskusję, w której skomentowano uzyskane wyniki oraz odniesiono je do dostępnego piśmiennictwa.

Powyżej zarysowane wyniki pozwoliły na wyciągnięcie wniosków z przeprowadzonego badania. Nowotwory płuc, piersi i jelita grubego u przeważającej liczby chorych, jeszcze przed włączeniem chemioterapii, powodują występowanie deficytu neurologicznego w postaci neuropatii czuciowej, czuciowo-ruchowej oraz zespołu mózdkowego. Natomiast nowe objawy występujące po 6 miesiącach obserwacji chorych poddawanych chemioterapii obejmują przede wszystkim neuropatię czuciowo-ruchową i zespół mózdkowy. Przed rozpoczęciem chemioterapii u badanych chorych stwierdzano zaburzenia pamięci operacyjnej i funkcji wykonawczych, a po chemioterapii pogarszały się jedynie

funkcje wykonawcze. Ekspresja wszystkich badanych neurotrofin w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej może być wykorzystana do oceny ryzyka rozwoju powikłań choroby nowotworowej w obrębie układu nerwowego, jednakże NT3 i NT4 mogą być przydatne jako czynniki prognostyczne powikłań chemioterapii. Rozwój antyneuralnej humoralnej odpowiedzi immunologicznej wiąże się z zahamowaniem ekspresji NT3 i NGF w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej zwiększając ryzyko rozwoju neurologicznych powikłań chemioterapii.

Wnioski przedstawione przez Autorkę pracy na podstawie otrzymanych wyników popartych prawidłowo przeprowadzoną analizą statystyczną odpowiadają wyznaczonym celom.

Uwagi recenzenta

Uwagi recenzenta

1. W przedstawionej pracy dokonano oceny w grupach pacjentów z trzema odmiennymi typami nowotworów: w dominującej - niezwykle dużej - grupie pacjentów z rakiem płuca, a także w kilkunastoosobowych grupach pacjentów z rakiem piersi oraz raka jelita grubego. Ośmielam się przedstawić sugestię, że ujęcie to mogło w pewnej mierze wpłynąć na wyniki przedstawianych badań. Sugestia nie umniejszająca wartości uzyskanych wyników.
2. Zwrócenia uwagi wymagają pojedyncze uchybienia formalne, nie umniejszające wartości przedstawianej pracy, np. 1/ w kilku miejscach użycie nazw handlowych leków zamiast międzynarodowych (w spisie skrótów, przy prezentacji preparatu gemzar, zamiast: gemcytabina (str. 6,8); 2/ niejednolita interpretacja skrótów, np. NSCLC – non-small-cell lung carcinoma na str. 7, a non small lung cancer na str. 26; 3/ brak

wyjaśnienia skrótu PBMC w spisie skrótów, 4/ brak ujęcia wykazu skrótów w spisie treści.

3. Na str. 10 – we wstępie – Doktorantka słusznie wymieniła trzy podstawowe metody leczenia nowotworów, jakimi są: chirurgiczna, radioterapia i chemioterapia. Dla uzupełnienia jednakże warto zwrócić uwagę na niezwykle ważny, a często niedoceniany element, jakim jest stosowanie optymalnej opieki podtrzymującej, tzw. *best supportive care*. Zwracam uwagę na ten element ze względu na nie ujmowanie lub pomijanie jego znaczenia w postępowaniu w obliczu choroby nowotworowej, co skutkuje w praktyce klinicznej obserwowaną izolacją wykonywanych procedur medycznych w zakresie trzech obszarów leczenia, przy częstym niedocenianiu zapewnienia holistycznej opieki nad pacjentem. Uwagę tę traktuję jedynie jako element dyskusji.

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości przedstawionej do recenzji pracy.

Podsumowanie recenzji

W recenzowanej rozprawie doktorskiej na uwagę zasługuje kompleksowa konstrukcja pracy, łącząca podstawy teoretyczne z przeprowadzonymi badaniami. Należy nadmienić, że ocena poprawności formalnej, w tym językowej, pracy jest wysoka.

Omawiana rozprawa doktorska wpisuje się do bardzo aktualnego nurtu badań naukowych, których celem jest opisanie mechanizmów powstawania, ocena predykcyjnej przebiegu chorób nowotworowych oraz możliwości przeciwdziałania lub leczenia powikłań chemioterapii w obrębie układu nerwowego.

Rozprawa doktorska lek. Joanny Rybackiej - Mossakowskiej przygotowana została starannie i rzetelnie. Stanowi istotny wkład do zasobów wiedzy dotyczącej znaczenia czynników neurotroficznych w rozwoju powikłań chemioterapii w

obrębie układu nerwowego. Świadczy o dobrym przygotowaniu Doktoranta do dalszej pracy naukowo-badawczej.

Przedstawioną do recenzji pracę oceniam pozytywnie ze względu na przyjętą i zrealizowaną koncepcję tematu, dużą wartość merytoryczną i formalną. Rozprawa p. Joanny Rybackiej - Mossakowskiej odpowiada bez zastrzeżeń wymaganiom stawianym na stopień doktora nauk medycznych. **Wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lek. Joanny Rybackiej - Mossakowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego gratulując dokonanego dzieła.**

Suzanna G/ta