dr hab. med. Jerzy Reymond
Radomski Szpital Specjalistyczny
Oddział Chirurgii Szczękowo- Twarzowej

Ocena rozprawy doktorskiej lekarza dentysty Łukasza Adamskiego pt. „Ocena ekspresji wybranych czynników immunomodulujących w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej"

Rozprawa doktorska lekarza dentysty Łukasza Adamskiego pt. „Ocena ekspresji wybranych czynników immunomodulujących w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej"s tanowi podstawę w ubieganiu się otrzymanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych. Praca jest przygotowana pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Anny Starzyńskiej z Zakładu Chirurgii Stomatologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Uważam że, podjęcie tego tematu za bardzo trafne i ważne. Dysertacja oparta jest o trzy wysoko impaktowane publikacje w czasopismach takich jak: - ***Biomedicines*** 2021, 9, 1132. **IF: 6,081; MNiSW: 20, - *Adv Dermatol Allergo* 2020;** doi.org/10.5114/ada.2020.98522**. IF: 1,837; MNiSW: 70;** -*Adv Dermatol Allergol* 2020; doi.org/10.5114/ada.2020.98523. **IF: 1,837; MNiSW: 70 pkt.** Oraz dysertcję. Badanie uzyskało pozytywną opinię Niezależnej Komisji Bioetycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (NKBBN/59/2016).

Praca ma typowy układ: spis treści, objaśnienie skrótów i symboli użytych w pracy, wprowadzenie, streszczenie polskie i angielskie, wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski oraz spis piśmiennictwa,spis tabel i rycin i opublikowane artykuły wchodzące w skład pracy doktorskiej.

We wprowadzeniu Doktorant przedstawia tytuły trzech prac stanowiących kanwę dysertacji. W rozdziale wstęp omawiane są zagadnienia nowotworów złośliwych jamy ustnej wśród których 95% stanowi rak płaskonabłonkowy (OSCC). Zmiany te dotyczą głównie mężczyzn po 60. roku życia. Wśród czynników, które wypływają na większe ryzyko wystąpienia raka jamy ustnej wymienia się palenie tytoniu, żucie betelu, spożywanie wysokoprocentowego alkoholu czy infekcje wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV). Najczęstszym objawem jest owrzodzenie błony śluzowej.

Autor przedstawił też klasyfikację TNM, opracowana w celu ujednolicenia oceny stopnia zaawansowania klinicznego i patomorfologicznego nowotworów złośliwych. W niniejszej pracy użyto klasyfikacji z 2016 roku, która jest ósmą wersją klasyfikacji rozszerzoną o ocenę stopienia naciekania miejscowego tkanek przez nowotwór i obecności nacieku torebki węzłów chłonnych.

Pomimo znacznego postępu, jaki poczyniono w leczeniu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej, przeżycie całkowite nie uległo znaczącej poprawie w ciągu ostatnich lat. Leczeniem z wyboru jest zwykle zabieg chirurgiczny z następową radioterapią i chemioterapią. Przebieg kliniczny choroby zależy głównie od stopnia zaawansowania zmiany, lokalizacji guza oraz możliwości radykalnej resekcji chirurgicznej. Raki zlokalizowane w obrębie języka i dna jamy ustnej rozpoznawane są dopiero w znacznym zaawansowaniu klinicznym i w związku z tym mają gorsze rokowanie niż nowotwory w pozostałych lokalizacjach jamy ustnej.

W dalszej części wstępu doktorant omówił rodzinę białek B7 w tym Szlak PD-L1 (B7-H1)/PD-L2 (B7-DC)/PD-1 B7-H1 (PD-L1) i B7-DC (PD-L2), receptor programowanej śmierci PD-1 oraz IL-33 (interleukin 33) będącą jednym z białek rodziny IL-1.

Następnym rozdziałem jest omówienie głównego celu pracy, a mianowicie analiza immunohistochemiczna wybranych czynników immunomodulujących w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej. Celami szczegółowymi są: -Ocena poziomu białek PD-L1 i IL-33 na komórkach nowotworowych i na limfocytach naciekających guz w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej. -Analiza zależności między cechami klinicznymi i patologicznymi a statusem poszczególnych białek w raku jamy ustnej. -Ocena zależności między białkami PD-L1 i IL-33 a całkowitym przeżyciem pacjentów w raku płaskonabłonkowym jamy ustnej. -Określenie wzajemnych zależności pomiędzy białkiem PD-L1 i IL-33.

W rozdziale materiał i metody doktorant sprecyzował badaną grupę, którą stanowiło 98 pacjentów (mężczyźni i kobiety w wieku 36-89 lat) z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej, którzy byli leczeni w Uniwersyteckim Centrum Klinicznym Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2007-2012. Materiał badawczy był oceniany makroskopowo, a po wykonaniu bloków parafinowych wybierano dwa reprezentatywne fragmenty zawierające tkanki raka płaskonabłonkowego jamy ustnej, które umieszczono we wtórnym bloku parafinowym i tak uzyskano mikromacierze tkankowe. W kolejnym etapie TMA zostały pocięte na mikrotomie na skrawki średnicy 4 μm i umieszczone na szkiełkach podstawowych. Następnie przeprowadzono barwienie immunohistochemiczne (IHC). Kontrolę pozytywną stanowiły prawidłowe migdałki podniebienne. Barwienie immunohistochemiczne składało się z 23 czynności a następnie przygotowane preparaty oceniono w mikroskopie świetlnym. Proporcję komórek z pozytywną ekspresją ustalono przez obliczenie liczby wybarwionych komórek nowotworowych (TCs) i limfocytów naciekających nowotwór (TILs) podzielonych przez całkowitą liczbę komórek każdego typu. Barwienie immunohistochemiczne (IHC) przeprowadzono przy użyciu systemu Ventana G11 .W badaniu wykorzystano monoklonalne przeciwciała królicze przeciwko PD-L1 XP® i IL-33 . Kontrolę pozytywną stanowiły prawidłowe migdałki podniebienne. Proporcję komórek z

pozytywną ekspresją ustalono przez obliczenie liczby wybarwionych komórek nowotworowych (TCs) i limfocytów naciekających nowotwór (TILs) podzielonych przez całkowitą liczbę komórek każdego typu.

Następnie przeprowadzono analizę statystyczną przy użyciu programu STATISTICA 13.3. Związki między analizowanymi markerami a cechami kliniczno-patologicznymi oceniano testem U Mann–Whitney dla zmiennych ciągłych. Współczynnik kappa Cohena obliczono, aby ocenić powtarzalność barwienia na dwóch rdzeniach TMA. Analizę całkowitego przeżycia całkowitego (ang. *overall survival,* OS) analizowano metodą Kaplana-Meiera i porównano za pomocą testu log-rank lub testu F-Cox. Przyjęto poziom istotności statystycznej $p \leq 0{,}05$.

Kolejny rozdział to Wyniki . Scharakteryzowano w nim badaną grupę chorych. Stwierdzono, że najliczniejszą grupą byli mężczyźni o średnim wieku 62 lata. Najliczniejszą grupę stanowili chorzy z nowotworem w stadium T2 i T1 . Brak przerzutów do lokalnych węzłów chłonnych stwierdzono u 42% pacjentów. U dwóch procent chorych prezentowała IV stopnień zaawansowania klinicznego nowotworu. Nikotynizm i alkoholizm deklarowało odpowiednio 52% i 14% badanych. Leczenie chirurgiczne było najczęściej stosowaną metodą terapii.

Następnie w kolejnym podrozdziale przeprowadzono ocenę immunohistochemiczną białka PD-L1. W czterdziestu czterech przypadkach (46,31%) wykazano pozytywną ekspresję białka PD- l. Zaobserwowano zależność pomiędzy niższym poziomem ekspresji białka PD-L1 oraz obecnością przerzutów do lokalnych węzłów chłonnych. Natomiast nie wykazano związku pomiędzy ekspresją białka a płcią, stadium T, stopniem zaawansowania, paleniem papierosów lub nadużywaniem alkoholu. Natomiast immunohistochemiczna ocena białka IL-33. Pozytywna ekspresja białka IL-33 była rzadziej notowana w obrębie guzów języka i dna jamy ustnej. Piętnaście przypadków (15,79%) wykazało pozytywną ekspresję IL-33 w jądrach TCs . W przypadkach stadiów zaawansowania 3 i 4 wykazano częstszą ekspresję białka IL-33 niż w przypadku nowotworów w niższych stopniach zaawansowania.

Badanie całej kohorty wykazało związek między przeżyciem a stopniem zróżnicowania histopatologicznego, stopniem zaawansowania, przerzutami do lokalnych węzłów chłonnych a ekspresją biała PD-L1 na TILs. W kolejnym podrozdziale pokazano Znaczenie prognostyczne ekspresji PD-L1 i IL-33 w różnych lokalizacjach. Ze względu na istotne różnice w ekspresji białka PD-L1 w nowotworach zlokalizowanych w obrębie języka i dna jamy ustnej postanowiono stworzyć oddzielne wieloczynnikowe modele regresji Cox'a. W grupie raków języka i dna jamy ustnej do ostatecznego modelu włączono dwie zmienne: wielkość zmiany pierwotnej oraz ekspresję białka PD-L1 na TCs. Badając zależność poziomu białek PD-L1 i IL-33 nie stwierdzono korelacji między ekspresją PD-L1 i IL-33. Cały rozdział zilustrowano 9 tabelami i 3 rycinami.

Przeprowadzona w rozdziale 8 dyskusja jest rzeczowa i odnosi się do wszystkich badanych wcześniej parametrów. Autor wyniki swoich badań konfrontuje z danymi z obszernego piśmiennictwa głównie anglojęzycznego, wykazuje szeroką znajomość tematu i umiejętność przeprowadzenia porównawczej analizy danych z piśmiennictwa.

Wyniki badań Doktorant ujął w 4 wnioskach logicznie wypływających z przeprowadzonych badań i będących odpowiedzią na zadania postawione w celu pracy.

Pracę kończą spis piśmiennictwa w liczbie 97 pozycji głównie anglojęzycznego /cztery pozycje stanowią prace polskich autorów/, spis tabel i rycin oraz opublikowane artykuły wchodzące w skład Rozprawy Doktorskiej.

Dokonując oceny całości rozprawy doktorskiej uważam za bardzo wartościowe opracowanie przez Autora tak ważnego tematu. Praca jest przygotowana w sposób wzorcowy, napisana jest poprawnym językiem polskim, z właściwym wykorzystaniem wszystkich pozycji piśmiennictwa, a umieszczone w niej tabele i ryciny czynią ją bardziej przejrzystą.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska lekarza dentysty Łukasza Adamskiego stanowi cenny, samodzielny dorobek Doktoranta, dowodzi umiejętności prowadzenia pracy badawczej i odpowiada wymogom stawianym pracy dla uzyskania stopnia doktora nauk medycznych. Wypełnia wymogi stawiane w przepisach art. 187 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r., poz. 85 z późn. zm.). Wnoszę, zatem, do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. dent. Łukasza Adamskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie biorąc pod uwagę nakład pracy, staranność i istotny wkład w poszerzenie dotychczasowej wiedzy na przedstawiony temat wnoszę ponadto o wyróżnienie rozprawy.

Radom 11.11.2021r

dr hab. n. med Jerzy Reymond
SPEC. CHIRURG SZCZĘKOWY
1874044 ZUS 9288[illegible]0