

dr hab. med. Anna Starzyńska
Zakład Chirurgii Stomatologicznej
Gdański Uniwersytet Medyczny
80-204 Gdańsk, ul. Dębowa 1A
Tel. 58 3492130; e-mail: ast@gumed.edu.pl

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Marka Łuciuka pod tytułem:
„Ocena występowania białka całkowitego p53 i jego ufosforylowanych form w pozycji seryna 15 i seryna 20 w nowotworach jamy ustnej: korelacja z wybranymi parametrami kliniczno-patologicznymi”

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Tomasza Kręcickiego

Co roku wzrasta liczba osób, u których wykrywany jest rak jamy ustnej. Ilość nowych chorych na całym świecie ocenia się na około 600 tysięcy rocznie. Rak jamy ustnej stanowi nadal poważny problem diagnostyczny i terapeutyczny. Pomimo stosowania nowoczesnych sposobów rozpoznawania i leczenia, wyniki leczenia tych nowotworów są nadal niezadowalające. Na przebiegu ostatnich lat nie odnotowano istotnego wzrostu przeżyć 5-letnich w tej grupie chorych. W bieżących badaniach nad wieloma nowotworami złośliwymi, w tym jamy ustnej, poszukuje się markerów molekularnych o przewidywalnym znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym. Dlatego w pełni uzasadnionym było podjęcie przez Doktoranta badań mających na celu określenie znaczenia prognostycznego białka p53 biorącego udział w naprawie uszkodzeń DNA lub wyzwalaniu apoptozy w raku jamy ustnej.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Marka Łuciuka omawia ważny temat roli białka całkowitego p53 i jego ufosforylowanych form w pozycji seryna 15 i seryna 20 w nowotworach jamy ustnej. Praca doktorska Autora liczy 158 stron, składa się ze wstępu, celu pracy, materiału i metody, części zawierającej wyniki badań, dyskusji, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim, wykazu stosowanych skrótów, 41 tabel i 35 rycin oraz 268 pozycji piśmiennictwa. We wstępie Doktorant przedstawił zwięzłe informacje dotyczące epidemiologii, etiologii, diagnostyki i leczenia raka jamy ustnej oraz budowy, funkcji i roli białka p53 w komórce. Ta część pracy wykazuje dużą znajomość tematu oraz dobre przygotowanie lek. Marka Łuciuka do podjęcia własnych badań. Na szczególną uwagę i uznanie zasługują znakomite ryciny zamieszczone w tej części. Celem pracy była ocena

zależności pomiędzy występowaniem całkowitego białka p53 oraz jego ufosforylowanych form w pozycjach seryna 15 i seryna 20 a wybranymi parametrami klinicznymi, określenie przydatności białka p53 jako czynnika prognostycznego w nowotworach jamy ustnej oraz ocena ufosforylowanych postaci białka p53 jako niezależnych lub współistniejących czynników rokowniczych. Szczegółnej ocenie poddano występowanie zależności pomiędzy poziomem ekspresji białka p53ser15 a wybranymi czynnikami kliniczno-patologicznymi (stopień zaawansowania klinicznego, stopień zróżnicowania histologicznego, obecność przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych, czas wolny od choroby, przeżycie). Cel badań został sformułowany w sposób zrozumiały i jednoznaczny. W rozdziale Materiał i metody wyczerpująco przedstawiono charakterystykę badanej grupy chorych z rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej oraz zastosowaną metodykę badań immunohistochemicznych. Materiał do badań stanowiły utrwalone w 10% formalinie i zatopione w parafinie fragmenty tkankowe pobrane od 66 pacjentów z rozpoznaniem raka jamy ustnej. W badanej grupie było 43 (65%) mężczyzn i 23 (35%) kobiety. Grupę porównawczą stanowiło 20 przypadków chorych z nowotworem łagodnym błony śluzowej jamy ustnej. Dla wszystkich przypadków zebrano obszerne dane kliniczne i demograficzne. We wszystkich przypadkach wykonano badania immunohistochemiczne i oceniono ekspresję białka całkowitego p53 oraz jego ufosforylowanej formy w pozycji ser15 i ser20. Chciałabym podkreślić, że Doktorant wykonał samodzielnie część eksperymentalną (przygotowanie preparatów, badania immunoenzymatyczne oraz wstępną ocenę histopatologiczną). Zastosowane w pracy metody statystyczne są typowe dla tego typu analiz i pozwalają obiektywnie ocenić ich wyniki. Zastosowane metody badań oraz ich sposób realizacji nie budzą zastrzeżeń. Wyniki pracy są przedstawione w sposób szczegółowy i budzący zaufanie oraz ilustrowane dobrze skomponowanymi tabelami i czytelnymi rycinami, które bardzo ułatwiają czytelnikowi dogłębną analizę licznych danych. Wyniki zostały szeroko i dokładnie omówione z bardzo bogatą analizą statystyczną, co umożliwia ich porównanie z danymi z piśmiennictwa. Spośród spostrzeżeń Doktoranta zawartych w tej części za najcenniejsze uważam wykazanie, że porównując stopień ekspresji poszczególnych markerów w grupie porównawczej (nowotwory łagodne) i badanej (nowotwory złośliwe) wykazał znacznie wyższy poziom białka całkowitego p53 ($p < 0,0001$) oraz p53ser20 ($p = 0,03$) w raku jamy ustnej. Odwrotną zależność zaobserwował dla białka p53ser15, gdzie wykazał znacznie wyższe wartości dla przypadków z chorobą nowotworową łagodną ($p < 0,0001$). W grupie pacjentów z rakiem jamy ustnej stwierdził poziom ekspresji białka p53ser15 poniżej 40% oraz wykazał znamienne częstsze ryzyko wystąpienia zgonu w 3-letnim okresie obserwacji

($p=0,05$). Istotną obserwacją jest potwierdzenie zależności pomiędzy ekspresją białka p53ser15 a obecnością przerzutu w regionalnych węzłach chłonnych szyi. Niskie wartości białka p53ser15 (poniżej 40%) cechują grupę pacjentów z wysokim prawdopodobieństwem obecności przerzutu węzłowego w chwili rozpoznania. Wyniki badań lek. Marka Łuciuka mają ważny aspekt praktyczny, wskazują bowiem, że niski poziom białka p53ser15 może świadczyć o wyjątkowej agresywności raka płaskonabłonkowego jamy ustnej. W rozdziale Dyskusja Doktorant właściwie zinterpretował wyniki swoich badań z wykorzystaniem doniesień innych autorów zajmujących się tymi problemami. Dyskusję w recenzowanej pracy oceniam wysoko. Autor wykazał się rozległą wiedzą medyczną na temat białka p53 i jego ufosforylowanych form w pozycji seryna 15 i seryna 20 w nowotworach jamy ustnej, umiejętnością korzystania z obcego piśmiennictwa, głównie w języku angielskim, a także należą ostrożnością w ocenie oraz w interpretacji uzyskanych wyników własnych. Doktorant sformułował ze swojej pracy 7 wniosków, z których najważniejszym jest stwierdzenie, że podwyższone wartości białka p53ser15 cechują pacjentów z niższymi stopniami zaawansowania klinicznego, wyższym stopniem zróżnicowania histologicznego, dłuższym czasem wolnym od choroby, dłuższym przeżyciem. Bardzo wysokie wartości p53ser15 stwierdzono w przypadku łagodnych nowotworów jamy ustnej. Niższe wartości p53ser15 wiążą się z krótszym czasem wolnym od choroby, krótszym przeżyciem, wyższym stopniem zaawansowania oraz występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych w chwili rozpoznania. Białko to wydaje się być niezależnym czynnikiem prognostycznym dla raków jamy ustnej. Wnioski zawarte w pracy są dla mnie przekonujące, korespondują z celami pracy i wynikają z przeprowadzonej analizy statystycznej. Rozprawę kończy spis 268 pozycji wykorzystanego piśmiennictwa, dobrane bardzo starannie i adekwatnie do badanego zagadnienia oraz streszczenie w języku polskim i angielskim zawierające najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań.

Pomimo iż praca jest bardzo dobrze napisana, Autor nie ustrzegł się drobnych nieścisłości, które chciałabym przytoczyć i prosić o wyjaśnienie:

1. Brakuje w tekście pracy informacji o zgodzie Komisji Bioetycznej na wykonanie badań.
2. W rozdziale piśmiennictwo powinno się przestrzegać jednolitego zapisu dla artykułu z czasopisma wg przyjętego standardu.
3. Znalazłam kilka drobnych błędów edytorskich i językowych, np. na str. 7, 63, 68.

Powyższe uwagi nie pomniejszają wartości pracy doktorskiej, która pod względem merytorycznym jest bardzo dobra. Praca stanowi bardzo wartościowe studium badawcze na temat oceny poziomu białka całkowitego p53 i jego ufosforylowanych form w pozycji seryna 15 i seryna 20 w nowotworach jamy ustnej.

Podsumowując, oceniam rozprawę doktorską lek. Marka Łuciuka bardzo wysoko. Uzyskane wyniki badań wskazują na wysoki stopień dociekliwości naukowej oraz znakomite umiejętności posługiwania się warsztatem badawczym. Doktorant wykazał się bardzo dobrą znajomością nowoczesnych metod doświadczalnych pogłębiając analizę zależności pomiędzy poziomem białka całkowitego p53 i jego ufosforylowanych form w pozycji seryna 15 i seryna 20 w nowotworach jamy ustnej a cechami kliniczno-patologicznym.

Przedstawiona do recenzji praca spełnia ustawowe warunki określone dla rozpraw doktorskich w Ustawie o Tytułach i Stopniach Naukowych. Biorąc powyższe pod uwagę, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Marka Łuciuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie, biorąc pod uwagę wysokie walory naukowe rozprawy oraz jej potencjalną wartość aplikacyjną, zwracam się z wnioskiem o jej wyróżnienie.

dr hab. med. Anna Starzyńska
A. Starzyńska
otolaryngolog
specjalista chirurgii szczękowej
specjalista zdrowia publicznego
Nr 4737083

Gdańsk, dnia 05.06.2017 r.