

Prof. dr hab. med. Janusz Klatka
Klinika Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej
UM w Lublinie

Lublin, dnia 2 maja 2016 r.

O C E N A

rozprawy doktorskiej lek. med. Anny Roszkowskiej-Nowickiej pt. „Analiza ekspresji białek: β -kateniny i E-kadheryny w gruczolaku wielopostaciowym ślinianki przyusznej”.

Nowotwory gruczołów ślinowych stanowią ok. 3% wszystkich nowotworów głowy i szyi. Jest to grupa niezwykle różnorodna – histologiczna klasyfikacja guzów gruczołów ślinowych wg WHO wymienia aż 32 typy nowotworów wywodzących się z nabłonka tkanki gruczołowej ślinianek. Wynikiem tak dużego zróżnicowania histologii nowotworów ślinianek są: odmienny przebieg kliniczny, inne wskazania terapeutyczne i skrajnie różna prognoza. Zasadnicze znaczenie ma skala problemu, tj. obserwowany przez część ośrodków nagły wzrost liczby pacjentów w ostatniej dekadzie. Jednocześnie słabo zdefiniowane i niejasne pozostają czynniki etiologiczne nowotworów gruczołów ślinowych.

Najczęstszym łagodnym utkaniem guza jest gruczolak wielopostaciowy. Szerokie spektrum różnorodnych komórek oraz ekspresja wielu różnych markerów w tkance nowotworowej są powodem trudności w jednoznacznym ustaleniu etiologii tego nowotworu oraz problemów diagnostycznych. W ostatnich latach rozważa się rolę β -kateniny i E-kadheryny jako markerów nowotworów ślinianek. Dlatego też podjęcie przez lek. med. Annę Roszkowską-Nowicką badań nad oceną ekspresji białek: β -kateniny i E-kadheryny w gruczolaku wielopostaciowym ślinianki przyusznej, uważam za celowe i w pełni uzasadnione.

Praca doktorska lek. med. Anny Roszkowskiej-Nowickiej liczy 103 strony tekstu, w którym zawarła dokumentację naukową w postaci 9 tabel i 14 rycin oraz 234 pozycje piśmiennictwa. Poza tym rozprawa ma układ typowy. W pierwszych podrozdziałach 34-stronicowego wstępu, wykorzystując aktualne dane literaturowe, Doktorantka przedstawiła szczegółowo informacje z zakresu epidemiologii oraz etiologii guzów ślinianek. Skupiła się głównie na czynnikach środowiskowych oraz genetycznych odpowiedzialnych za rozwój nowotworów regionu głowy i szyi. W kolejnym podrozdziale Wstępu, szczegółowo opisała budowę anatomiczną i histologiczną ślinianki przyusznej. Rozdział ten zilustrowała ładnymi

rycinami obrazującymi schemat budowy saliwanu oraz komórek mioepitelialnych otaczających pęcherzyk. W oparciu o aktualną klasyfikację WHO z 2005 roku wyróżnia 43 typy nowotworów ślinianek. Przytoczyła aktualną definicję gruczolaka wielopostaciowego, ustaloną przez WHO. Doktorantka przypomniała, że zaproponowana przez Billotha w 1859 roku nazwa „*tumor mixtus*”, została w 1953 roku zastąpiona przez Willisa nazwą „*adenoma pleomorphicum*” – gruczolak wielopostaciowy, która jest obecnie powszechnie stosowana na całym świecie i podkreśla nabłonkowy charakter guza.

Swoje duże doświadczenie kliniczne wykorzystuje przy przedstawieniu metod diagnostycznych oraz objawów klinicznych gruczolaka wielopostaciowego ślinianki przyusznej. Zwraca uwagę bardzo dojrzała ocena wartości badań obrazowych oraz biopsji cienkoigłowej w diagnostyce guzów ślinianek. W przejrzysty sposób opisuje metody leczenia gruczolaka wielopostaciowego ślinianki przyusznej, dając dowód swemu dużemu doświadczeniu klinicznemu w tym zakresie.

Ostatnie podrozdziały wstępu to popis wiedzy doktorantki w zakresie immunologii i biologii molekularnej. Kompetentnie przedstawiła rolę markerów nowotworowych w diagnostyce guzów ślinianek. Wskazała, że przydatne okazują się być w tym procesie takie markery jak erbB-2, erbB-3, EGFR i TGF- α . Przejrzysto opisała udział β -kateniny i E-kadheryny w procesie transformacji nowotworowej oraz szlak Wnt/ β -katenina.

Podsumowując ocenę tej części pracy stwierdzam, że we wstępie przejrzysto i wyczerpująco zostały przedstawione współczesne metody diagnozowania i leczenia guzów ślinianek. Doktorantka wykazała się znajomością aktualnych poglądów na temat roli markerów nowotworowych w diagnostyce guzów ślinianek, ze szczególnym uwzględnieniem roli β -kateniny i E-kadheryny w procesie transformacji nowotworowej. Świadczy to o doskonałej orientacji Doktorantki w opracowywanym temacie. Wszystkie dane zostały poparte licznymi cytowaniami.

W dalszej części Autorka jasno precyzuje cele swoich badań, zestawiając je w czterech czytelnych punktach, które są konsekwentnie realizowane w dalszej części badań.

Celem przeprowadzonych badań była:

1. Ocena immunohistochemiczna ekspresji wybranych białek: β -kateniny i E-kadheryny w gruczolaku wielopostaciowym ślinianki przyusznej.
2. Ocena zależności pomiędzy ekspresją wybranych białek, a rozwojem oraz przebiegiem klinicznym gruczolaka wielopostaciowego ślinianki przyusznej w oparciu o uzyskane wyniki analizy immunohistochemicznej.

3. Próba oceny udziału białek adhezyjnych w procesie metaplazji gruczolaka wielopostaciowego ślinianki przyusznej na podstawie analizy ich ekspresji w poszczególnych grupach komórek komponenty nabłonkowej guza.

4. Ocena przydatności E-kadheryny jako markera diagnostycznego w gruczolaku wielopostaciowym ślinianki.

Preparaty gruczolaka wielopostaciowego ślinianki przyusznej pochodziły od 47 pacjentów leczonych operacyjnie w Klinice Otolaryngologii Chirurgii Głowy i Szyi Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu w latach 2005-2011.

Do badania wykorzystano skrawki wcześniej zatopionych bloczków parafinowych. Rozpoznanie weryfikowano w barwieniu H+E. Metodą wykorzystaną do oceny ekspresji białek było badanie immunohistochemiczne. Do badań użyto odpowiednich przeciwciał monoklonalnych i zestawu do wizualizacji firmy DAKO. Analizowano wzajemną zależność ekspresji E-kadheryny i β -kateniny w określonych strukturach guza oraz korelację ekspresji tych białek z wiekiem i płcią.

W większości przypadków Doktorantka odnotowała charakterystyczny dla β -kateniny normotypowy odczyn błonowy. Dodatnia ekspresja błonowa była obecna w 66% przypadków dla komórek luminalnych i 45% przypadków dla komponenty nabłonkowej guza. Dodatni odczyn cytoplazmatyczny był obecny w 6,3% dla komórek komponenty nabłonkowej i 6,2% dla komórek luminalnych. Ekspresja białka w jądrze komórkowym była obecna w dwóch przypadkach. Dla komórek mioepitelialnych odnotowano dodatnią ekspresję jedynie w cytoplazmie, w 39% przypadków. W niewielkiej liczbie przypadków redukcja ekspresji błonowej β -kateniny w obrębie komponenty nabłonkowej korelowała z dodatnim odczynem cytoplazmatycznym białka. Nie stwierdzono ekspresji β -kateniny dla podścieliska.

Ekspresję błonową dla E-kadheryny Doktorantka obserwowała w 84% przypadkach dla komórek luminalnych, w których najsilniejszą reakcję stwierdzono w warstwie komórek tworzącej wewnętrzną ścianę światła przewodów ślinianek. W pozostałych warstwach komórek ekspresja błonowa E-kadheryny była silnie i średnio dodatnia. Nasilenie reakcji stopniowo zmniejszało się doobwodowo. Utratę ekspresji E-kadheryny odnotowano w nielicznych przypadkach gruczolaka wielopostaciowego ślinianki przyusznej. Dla komórek luminalnych stanowiła ona 16%, (5 przypadków). Większy odsetek utraty ekspresji Autorka obserwowała wśród komórek komponenty nabłonkowej – 30% (14 przypadków). Doktorantka nie stwierdziła reakcji dla E-kadheryny w podścielisku i komórkach mioepitelialnych.

Autorka stwierdziła, istotną statystycznie, silną korelację pomiędzy ekspresją błonową β -kateniny dla komponenty nabłonkowej a błonową ekspresją E-kadheryny w komórkach luminalnych. Nie odnalazła zależności pomiędzy pozostałymi wymiarami β -kateniny i E-kadheryny. W analizie zależności pomiędzy ekspresją białek adhezyjnych a wiekiem stwierdziła jedynie, że wraz z wiekiem badanych maleje ekspresja β -kateniny dla błony komponenty nabłonkowej. Nie stwierdziła żadnych innych zależności pomiędzy wiekiem a zmiennymi badawczymi. Nie obserwowała statystycznie istotnych zależności pomiędzy ekspresją E-kadheryny i β -kateniny a płcią.

W dyskusji Autorka umiejętnie porównuje wyniki własne do uzyskanych przez innych autorów. Wykazuje się dużą wiedzą, logicznie próbuje interpretować uzyskane wyniki, odbiegające czasami od wyników przedstawianych przez innych autorów. W dyskusji, jak i w pozostałych częściach pracy wykorzystuje i cytuje 234 pozycje piśmiennictwa, przeważnie anglojęzycznego.

Całość pracy kończy się sześcioma wnioskami, znajdującymi swoje uzasadnienie w uzyskanych wynikach. Wnioski, stanowiące podsumowanie przeprowadzonych badań sformułowane są ostrożnie, co świadczy o dużej dojrzałości naukowej Doktorantki.

Po szczegółowym zapoznaniu się z każdą rozprawą doktorską przedstawianą mi do recenzji, zazwyczaj nasuwają mi się pewne uwagi krytyczne, które w związku z przysługującym mi prawem wskazuję w podsumowaniu recenzji. Z przyjemnością stwierdzam, że po lekturze tej pracy takich uwag nie mam.

Reasumując, w oparciu o przeprowadzone badania oraz wyniki uzyskane przy zastosowaniu nowoczesnych i wiarygodnych metod, głęboką wiedzę Autorki, Jej samodzielność i swobodę poruszania się w temacie będącym przedmiotem badań, uważam, że omawiana rozprawa spełnia wszystkie warunki stawiane pracom doktorskim i na tej podstawie mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. med. Anny Roszkowskiej-Nowickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Janusz KLATKA
specjalista otolaryngolog
tel. 0603 593 259
1761230

