

Dr hab. n. med. Rafał Koszowski
Akademickie Centrum Stomatologii
i Medycyny Specjalistycznej
pl. Akademicki 17
41-902 Bytom

Bytom, 04. 03 2015 r.

OCENA

Rozprawy doktorskiej **lek. dent. Pawła Tadeusza Milnera** z Zakładu Chirurgii Stomatologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pt.: **„Ocena przydatności klinicznej urządzenia VELscope VX w diagnostyce zmian o nieokreślonym potencjale rozrostowym zlokalizowanych na powierzchni błony śluzowej jamy ustnej”**

Promotor: dr hab. n. med. prof. nadzw. Anna Janas-Naze

Zapobieganie chorobom nowotworowym i ich leczenie należą do najważniejszych wyzwań współczesnej medycyny. Według najnowszych danych schorzenia te stają się główną przyczyną zgonów w krajach wysoko rozwiniętych, wyprzedzając, znajdujące się dotychczas na pierwszym miejscu, choroby układu krążenia. Poza niezaprzeczalnym postępem w diagnostyce i metodach leczenia, kluczem do sukcesu jest wczesne wykrywanie nowotworów, zniemiennie poprawiające rokowanie. Problem ten jest szczególnie widoczny w odniesieniu do raka jamy ustnej. Pomimo łatwej dostępności tego obszaru anatomicznego podczas badania klinicznego, a nawet dla samokontroli przeprowadzanej przez pacjentów, chorzy zgłaszają się do leczenia najczęściej w zaawansowanym stadium choroby. Z uwagi na powyższe niezwykle cenne są wszelkie wysiłki podejmowane w celu poprawy wczesnego rozpoznawania stanów przedrakowych i nowotworów jamy ustnej. W ten nurt doskonale wpisuje się tematyka badań podjętych przez lek. dent. Pawła T. Milnera, dotycząca diagnostyki zmian rozrostowych umiejscowionych na powierzchni błony śluzowej jamy ustnej.

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska ma formę wydruku komputerowego i liczy łącznie 184 strony, obejmujące Wstęp, Część poglądową, Cel pracy, Materiał i Metodę badań, Wyniki badań i Omówienie, Dyskusję, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Spis tabel, Spis rycin, Piśmiennictwo oraz Aneks.

We Wstępie liczącym 5 stron Autor wprowadza czytelnika w problematykę zapadalności na schorzenia nowotworowe, ze szczególnym uwzględnieniem raka jamy ustnej. Podkreśla znaczenie wczesnego wykrywania i różnicowania zmian patologicznych błony śluzowej jamy ustnej wzbudzających czujność onkologiczną i rolę jaką powinien tutaj odgrywać lekarz stomatolog. Doktorant zwraca uwagę na nowe metody diagnostyczne, wśród których wymienia badanie fluorescencyjne, omawiając jego zasady.

Rozdział II – Część poglądowa, obejmujący 30 stron, składa się z 7 podrozdziałów. Autor omawia w nim podstawy fluorescencji tkankowej, charakteryzuje pojęcie „*zmian o nieokreślonym potencjale rozrostowym*”, które zastosował w przedłożonym opracowaniu dla wszystkich nieprawidłowości w zakresie morfologii i czynności tkanek obserwowanych na powierzchni błony śluzowej jamy ustnej, opisuje patomechanizm oraz etapy kancerogenezy, wymienia czynniki ryzyka raka jamy ustnej, jak również szczegółowo opisuje przebieg badania stomatologicznego i histopatologicznego. Szczególnie ważny dla badań przeprowadzonych przez Doktoranta jest podrozdział 7., gdzie omówiono ocenę aktywności proliferacyjnej tkanki przy wykorzystaniu Indeksu Proliferacyjnego (IP), określanego w trakcie badania immunohistochemicznego, wykorzystującego przeciwciała MIB-1 dla antygenu Ki-67. W świetle danych z piśmiennictwa indeks ten może stanowić źródło informacji o znaczeniu prognostycznym, istotnych podczas kwalifikacji chorych do leczenia.

Celem badania podjętego przez lek dent. Pawła T. Milnera była ocena przydatności klinicznej urządzenia Velscope VX w diagnostyce zmian o nieokreślonym potencjale rozrostowym zlokalizowanych na powierzchni błony śluzowej jamy ustnej.

Materiał badawczy stanowiła grupa 80 pełnoletnich pacjentów (41 kobiet i 39 mężczyzn), skierowanych do Zakładu Chirurgii Stomatologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w okresie od 01. 12. 2013 r. do 01. 12. 2014 r., z powodu zmian patologicznych umiejscowionych na błonie śluzowej jamy ustnej. Dane uzyskane podczas wywiadu ogólnolekarskiego, stomatologicznego i onkologicznego, uwzględniającego informacje o narażeniu na czynniki ryzyka raka jamy ustnej, gromadzono w postaci opracowanych w tym celu obszernych ankiet. Przeprowadzano ocenę błony śluzowej jamy ustnej, która

obejmowała najpierw badanie wzrokiem w sztucznym oświetleniu lampy unitu stomatologicznego, a następnie analizę autofluorescencji tkankowej przy użyciu aparatu VELscope VX. Warto podkreślić, iż w celu określenia stopnia nasilenia patologii Autor opracował własną, czterostopniową skalę oceny ubytku autofluorescencji (skala FVL- *Fluorescence Visualisation Loss*). Obrazy zmian patologicznych na powierzchni błony śluzowej jamy ustnej, obserwowane zarówno w świetle lampy unitu stomatologicznego jak i fluorescencyjne, dokumentowano w postaci zdjęć fotograficznych. Fotografie wykonywano w świetle białym lampy pierścieniowej oraz przez sprzężenie aparatu z urządzeniem VELscope VX, stosując w tym celu konfigurację sprzętu w sposób opracowany przez Autora i szczegółowo opisany w odrębnym podrozdziale. Uzyskane zdjęcia fotograficzne poddawano następnie obróbce cyfrowej. Zgromadzona w ten sposób dokumentacja fotograficzna pozwoliła na ocenę regresji lub progresji zmian patologicznych obserwowanych na powierzchni błony śluzowej jamy ustnej, jak również na weryfikację oceny stopnia ubytku autofluorescencji w skali FVL. Należy podkreślić, iż dokumentacja fotograficzna zamieszczona w rozprawie doktorskiej jest niezwykle staranna, wykonana profesjonalnie i stanowi bardzo cenną część niniejszego opracowania.

Utrzymywanie się zmian patologicznych powyżej 7 dni po wykluczeniu potencjalnych czynników sprawczych stanowiło, zgodnie z obowiązującymi zasadami, wskazanie do pobrania wycinka tkankowego. W przypadkach wzbudzających niepokój onkologiczny rezygnowano z 7 dniowego okresu obserwacji, natychmiast przystępując do wykonania biopsji. Dla każdego wycinka sporządzano po dwa preparaty mikroskopowe. Pierwszy barwiono hematoksyliną i eozyną, w drugim natomiast przeprowadzano odczyn immunohistochemiczny z surowicą anty Ki-67 MIB-1, celem wykrycia jąder komórek będących w aktywnych fazach podziału mitotycznego. Wyznaczano wartości Indeksu Proliferacyjnego (IP- *Proliferation Index*), który określa odsetek komórek proliferujących i może być pomocny w określeniu potencjału wzrostowego zmiany. Ze względu na warstwową budowę nabłonka wyściełającego błonę śluzową jamy ustnej, wartości procentowe podawano z podziałem na warstwę podstawną (WP) oraz zrąb łącznotkankowy (ZŁ). Jeżeli występowały zaburzenia w warstwowej budowie tkanki nabłonkowej, wyznaczano wartości IP w całej masie tkankowej (CM). Analizę mikroskopową przeprowadzono w Katedrze Patomorfologii Stomatologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Dokonano weryfikacji obrazów fluorescencyjnych pod kątem zmian proliferacyjnych w obrębie błony śluzowej. Zestawiono wartości oceny stopnia ubytku autofluorescencji w skali

FVL z wartościami Indeksu Proliferacyjnego, uwzględniając ewentualne zaburzenia architektury tkankowej. Uzyskane dane poddano analizie statystycznej. Dla cech mierzalnych obliczano średnią arytmetyczną (\bar{x}), medianę (Me), odchylenie standardowe (SD) oraz podano wartość minimalną i maksymalną. Dla porównania częstości poszczególnych odmian cech w badanych grupach oraz dla zbadania zależności pomiędzy analizowanymi zmiennymi, posłużono się testem niezależności χ^2 . W przypadku małej liczebności zastosowano poprawkę Yates'a. Przyjęto poziom istotności statystycznej $p < 0,05$.

Wyniki badań zostały przedstawione w postaci bardzo starannego i obszernego opracowania, wzbogaconego licznymi rycinami i tabelami. Spośród 83 zmian patologicznych u 80 pacjentów, weryfikację histopatologiczną przeprowadzono w 60 przypadkach, z czego u 11 osób rozpoznano złośliwy charakter procesu chorobowego. Autor wykazał, iż w zmianach, dla których stopień ubytku autofluorescencji określono na FVL 0 lub 1, badania histopatologiczne potwierdzały zachowaną architekturę tkankową. Wartości Indeksu Proliferacyjnego nie przekraczały wówczas 50% w warstwie podstawnej i 20% w zrębie łącznotkankowym. W większości przypadków (poza jednym) prawidłowości te obserwowano również wówczas, gdy stwierdzano ubytek autofluorescencji FVL 2. Wysokie wartości Indeksu Proliferacyjnego w całej masie tkankowej wiązały się natomiast z wysokimi stopniami ubytku autofluorescencji – FVL 3 i u jednej osoby 2. Autor nadmienia jednak, iż w dwóch przypadkach, w których rozpoznano zmiany o charakterze łagodnym – nadziąsłaki – obserwowano ubytek autofluorescencji FVL 3, gdzie wartości Indeksu Proliferacyjnego nie przekraczały 50% w warstwie podstawnej i 20% w zrębie łącznotkankowym. Doktorant podkreśla, iż w związku z tym, że urządzenie VELscope VX może mylnie sugerować proces nowotworowy, badanie fluorescencji tkankowej stanowi jedynie cenne uzupełnienie metod diagnostycznych, nie eliminując bezwzględnej konieczności weryfikacji histopatologicznej ocenianych zmian patologicznych.

W obejmującym 9 stron wydruku komputerowego rozdziale Dyskusja Doktorant porównuje wyniki badań własnych z doniesieniami innych autorów. Czyni to w sposób bardzo dojrzały, trafnie posługując się danymi z piśmiennictwa i odpowiednio interpretując własne spostrzeżenia. Autor zauważa, iż urządzenie VELscope VX może być pomocne przy wyborze optymalnego miejsca pobrania wycinka tkankowego. Wydaje się, że uwaga ta może być szczególnie trafna w odniesieniu do rozległych i wielomiejscowych zmian patologicznych, gdzie miejsce biopsji mogą sugerować obszary o największym stopniu ubytku autofluorescencji. Obserwacja ta stanowi przyczynek do dalszych badań.

Rozprawę kończą trzy wnioski, które są logicznym podsumowaniem badań własnych. Lek. dent. Paweł T. Milner stwierdza, iż urządzenie VELscope VX jest skuteczne w wykrywaniu podwyższonego potencjału proliferacyjnego. Zauważa jednak, że silny ubytek autofluorescencji nie dowodzi jednoznacznie obecności choroby nowotworowej. W związku z powyższym weryfikacja histopatologiczna obserwowanych zmian jest niezbędna dla postawienia ostatecznego rozpoznania.

Spis piśmiennictwa obejmuje 102 pozycje, Są one aktualne i właściwie cytowane w tekście pracy.

Cennym uzupełnieniem rozprawy doktorskiej jest Aneks, obejmujący 30 pozycji. Składają się na nie barwne, wysokiej jakości fotografie, tabele zawierające szereg dodatkowych informacji zgromadzonych podczas przeprowadzonego badania, jak również druki odpowiednich formularzy i ankiet, którymi posługiwał się Autor.

Z obowiązku recenzenta pragnę wskazać na pewne błędy o charakterze edytorskim, jak użycie określeń stosowanych w mowie potocznej np.: „*śluzówka*” zamiast „*błona śluzowa*”, „*od frontu*” zamiast „*z przodu*” (opis ryc. 14. na stronie 41), „*wyrostek zębodołowy*” zamiast „*część zębodołowa*” w odniesieniu do żuchwy, czy też „*na styku z podniebieniem twardym*” (opis ryc. 47. na stronie 74) dla opisu umiejscowienia zmiany położonej w sklepieniu przedsionka jamy ustnej na granicy z wyrostkiem zębodołowym szczęki. Wymienione uchybienia mają charakter redakcyjny i mogą zostać skorygowane podczas przygotowania pracy do publikacji. Nie wpływają one na merytoryczną wartość rozprawy.

Podsumowując, uważam rozprawę doktorską lek. dent. Pawła T. Milnera za wartościowe i interesujące opracowanie naukowe. Nowatorskie i istotne ze względu na znaczenie kliniczne było zestawienie obrazów autofluorescencyjnych ocenianych zmian patologicznych z Indeks Proliferacyjnym, określanym na podstawie odczynu immunohistochemicznego z surowicą anty Ki-67 MIB-1. Warta podkreślenia jest również niezwykle staranna szata graficzna rozprawy, a przede wszystkim wysokiej jakości zdjęcia fotograficzne obrazów fluorescencyjnych, uzyskane dzięki metodyce ich wykonania opracowanej przez Autora.

Uważam, że rozprawa doktorska pt. „*Ocena przydatności klinicznej urządzenia VELscope VX w diagnostyce zmian o nieokreślonym potencjale rozrostowym*”

zlokalizowanych na powierzchni błony śluzowej jamy ustnej” spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim w świetle Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku. Na tej podstawie składam do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. dent. Pawła T. Milnera do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie oceniając bardzo wysoko przedstawioną dysertację i biorąc pod uwagę:

- nowatorski charakter rozprawy,
- opracowaną metodologię,
- istotność wyników dla praktyki klinicznej,
- wysoki poziom naukowy opracowania

pragnę przedstawić Wysokiej Radzie wniosek o jej wyróżnienie.

Dr hab. n. med. Rafał Koszowski

