



Warszawa, 23.09.2024 roku

dr hab. n. med., prof. WIML
Andrzej Wojdas
Klinika Otolaryngologii WIML
ul. Krasińskiego 54, 01-755 Warszawa

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Katarzyny Kolary-Siekierskiej

pt. „Ocena ekspresji wybranych genów u pacjentów z guzami ślinianek”.

Przedmiotem pracy doktorskiej była ocena wpływu genów forkhead box O3 (FOXO3) oraz kinazy aktywowanej mitogenami 1 (MAPK1) na rozwój łagodnych nowotworów gruczołów ślinowych oraz analiza pacjentów pod kątem ryzyka rozwoju chorób nowotworowych głowy i szyi.

Rozprawa doktorska dotyczy bardzo aktualnego zagadnienia w laryngologii onkologicznej. Problem powstawania guzów niezłośliwych gruczołów ślinowych, ich diagnostyki oraz chirurgicznego leczenia od lat toczy się dobrze poznanym szlakiem ustalonych procedur. Każda nowa praca zwiększająca wiedzę na temat chorób ślinianek jest oczekiwana i mile widziana w gronie chirurgów głowy i szyi. Dobór tematu pracy doktorskiej należy więc uznać za trafny i pozwalający zgłębić problem o ważnym znaczeniu klinicznym. Poszukiwanie nowych metod diagnozowania i leczenia guzów ślinianek ma ogromne znaczenie.

Rozprawa doktorska liczy 39 stron i ma formę cyklu opublikowanych prac uzupełnionych streszczeniami, wykazem skrótów, wstępem, prezentacją celów i założeń pracy, omówieniem materiału i metodyki, wyników oraz podsumowaniem i wnioskami, a także bibliografią i oświadczeniami współautorów publikacji tworzących cykl.

W skład cyklu wchodzi 2 publikacje – prace oryginalne opublikowane w renomowanych czasopismach w roku 2024, w których Doktorantka jest pierwszym autorem, a promotor dr hab. n. med, prof. UM Jarosław Miłośki współautorem. Są to:

1. Kolary-Siekierska K., Jałocha-Kaczka A., Niewiadomski P., Miłośki J.:
Warthin tumors – risk factors, diagnostics, treatment. *Nowotwory J. Oncol.* 2024, 74, 2, 99.
<https://doi.org/10.5603/njo.98175>
Punktacja MEiN = 100
2. Kolary-Siekierska K., Niewiadomski P., Namieciński W., Miłośki J.:
Expression of FOCO3 and MAPK1 Genes in Patients with benign salivary gland tumors. *J. Clin. Med.* 2024, 13, 1, 215
<https://doi.org/10.3390/jcm13010215>
Impact Factor 3,9 Punktacja MEiN = 140

Łączna wartość współczynnika oddziaływania (ang. impact factor, IF) dla tych czasopism wynosi 3,9, a punktów MEiN 240.

W przypadku rozprawy doktorskiej opartej o współautorski cykl publikacji istotnym elementem jest ocena indywidualnego udziału Doktorantki w poszczególnych pracach tworzących cykl. W każdej z dwóch publikacji Doktorantka jest pierwszą autorką pracy, która zgodnie z oświadczeniem była odpowiedzialna za przygotowanie koncepcji prac i manuskryptów, zbieranie materiału, opracowanie metodologii, przegląd literatury i zbieranie danych, analizę statystyczną oraz przygotowanie tabeli jej udział wynosił w poszczególnych pracach odpowiednio 80% i 75%. Po analizie oświadczeń współautorów uznaję, że indywidualny wkład Doktorantki w prace stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej spełnia kryteria określone w artykule 13, ustęp 1 i 4 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

W rozdziale „Wstęp” Doktorantka przedstawiła zwięźle wiedzę na temat niezłośliwych nowotworów gruczołów ślinowych, skupiając się na gruczolaku wielopostaciowym i limfatycznym oraz diagnostyce i leczeniu tych guzów. Odniosła się także do rozwoju biologii molekularnej, który pozwala na poszukiwanie zmian komórkowych będących przyczyną nowotworzenia.

Białka MARK to kinazy uruchamiające kaskadę fosforylacji, co pozwala regulować transkrypcje genów, syntezę białek, podziały komórkowe i apoptozę komórki. Białka FOXO regulują transkrypcje genów kodujących białka promujące apoptozę i zatrzymanie cyklu komórkowego. Przedstawiła najnowsze doniesienia dotyczące tematu pracy. Lektura tego rozdziału wskazuje na bardzo dobrą znajomość problematyki będącej tematem rozprawy doktorskiej i dogłębną analizę doniesień w światowej literaturze.

Szczegółowe cele obejmowały:

1. Analizę czynników ryzyka rozwoju nowotworów głowy i szyi pacjentów z nowotworami gruczołów ślinowych,
2. Analizę ekspresji genów FOXO 3 i MARK1 oraz wpływ badanych genów na rozwój guzów Warthina i gruczolaków wielopostaciowych,
3. Analizę czy wybrane geny mają wpływ na cechy kliniczne guzów ślinianek.

Grupa badawcza składała się pacjentów leczonych w Klinice Otolaryngologii, Onkologii Laryngologicznej, Audiologii i Foniatrii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. Wojskowej Akademii Medycznej w Łodzi z powodu guzów gruczołów ślinowych. Do oceny guzów zastosowano klasyfikację WHO 2022. W ramach diagnostyki przedoperacyjnej przeprowadzono wywiad i badanie fizykalne, wykonano badania laboratoryjne (morfologia, kreatynina i CRP) oraz dodatkowe badania tj.: BACC, USG, TK lub MRI z kontrastem. We wszystkich przypadkach wykonano następujące leczenie chirurgiczne, które oceniono wg nowej klasyfikacji operacji ślinianek przyusznych z 2016 roku zaproponowanej przez Europejskie Towarzystwo Gruczołów Ślinowych (ang. *European Salivary Gland Society*; ESGS).

Poza tym wykorzystano dane ankietowe obejmujące płeć, wiek, waga, wzrost, choroby przewlekłe (cukrzyca, nadciśnienie, hipercholesterolemia) oraz informacje dotyczące palenia (dotyczące okresu palenia i ilości wypalanych papierosów

dziennie) i spożywania alkoholu uzyskano od wszystkich uczestników badania. Ustalano też wskaźnik masy ciała BMI.

Do badań genetycznych wykorzystano fragment tkanki (guza i prawidłowe tkanki gruczołu ślinowego) pobrany podczas operacji.

Pacjenci wyrazili świadomą i dobrowolną zgodę na zabieg i udział w badaniu. Badanie przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską. Na przeprowadzenie badań wyraziła zgodę Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Publikacja pierwsza opublikowana w 2024 r. stanowi pewien wstęp do całego cyklu. Doktorantka skupiła się w niej na przedstawienie własnych doświadczeń w diagnostyce i leczeniu nowotworów gruczołów ślinowych oraz analiza czynników ryzyka rozwoju gruczolaka limfatycznego. W diagnostyce guzów ślinianek stosowała tzw. „złoty standard diagnostyczny” czyli USG, BACC i tomografię komputerową.

Na podstawie własnych badań stwierdzono, że głównym czynnikiem ryzyka jest uzależnienie od nikotyny, a także wzrost BMI.

W leczeniu zastosowano najczęściej zewnątrztorbkowe usunięcie guza (ang. *extracapsular tumour dissection*; ECD).

Podsumowaniem badań Doktorantki jest druga publikacja, opublikowana także w 2024r. W mojej opinii jest to najistotniejsza z punktu klinicznego praca, w której oceniano wpływ ekspresji genów FOXO3 i MAPK1 w tkankach ślinianek i guzach ślinianek.

Grupa badawcza składała się z 50 pacjentów leczonych w Klinice Otolaryngologii, Onkologii Laryngologicznej, Audiologii i Foniatrii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. Wojskowej Akademii Medycznej w Łodzi z powodu guzów gruczołów ślinowych, z tego 25 pacjentów z gruczolakiem limfatycznym oraz 25 pacjentów z gruczolaków wielopostaciowym, w wieku od 23 do 80 lat (średni wiek 58,45 roku). Grupę kontrolną stanowili ci sami pacjenci, od których pobrano fragment prawidłowej tkanki gruczołu ślinowego. Do oceny guzów zastosowano klasyfikację WHO 2022. W ramach diagnostyki przedoperacyjnej przeprowadzono wywiad i badanie fizykalne, wykonano badania laboratoryjne (morfologia, kreatynina i CRP) oraz dodatkowe badania tj.: BACC, USG, TK lub MRI z kontrastem. We wszystkich przypadkach

wykonano następujące leczenie chirurgiczne: częściową parotidectomię z zachowaniem nerwu twarzowego, które obejmowały wg nowej klasyfikacji: zewnątrztorbkowe usunięcie guza (ang. *extracapsular tumour dissection*; ECD) oraz parotidectomię od I do IV w zależności od wielkości i lokalizacji guza.

Do badań genetycznych wykorzystano fragment tkanki (guza i prawidłowe tkanki gruczołu ślinowego) pobrany podczas operacji.

Następnie ekspresję wybranych genów oszacowano za pomocą odpowiednich technik molekularnych.

Ekspresja genu czynników transkrypcyjnych klasy O (FOXO3s) była statystycznie istotnie niższa ($p < 0,05$) w tkankach gruczolaka pleomorficznego niż w tkankach normalnych gruczołów ślinowych lub w tkankach guza Warthina oraz ekspresja genu kinazy białkowej aktywowanej mitogenem 1 (MAPK1) była statystycznie istotnie niższa ($p < 0,05$) w tkankach gruczolaka pleomorficznego niż w tkankach normalnych gruczołów ślinowych lub w tkankach guza Warthina.

Badanie wykazało spadek ekspresji genów w gruczolakach pleomorficznych, co może sugerować, że procesy te mogą być zaangażowane w rozwój tego typu nowotworu.

Najważniejsze konkluzje z publikacji tworzących cykl są zawarta w rozdziale „Wyniki i dyskusja”, w których Doktorantka stwierdza, że:

1. Nikotynizm jest głównym czynnikiem ryzyka gruczolaka limfatycznego zwanego inaczej guzem Warthina.
2. Wykazano spadek ekspresji genów FOXO3 i MAPK1 w gruczolakach pleomorficznych, co może sugerować, że procesy te mogą być zaangażowane w rozwój tego typu nowotworu.
3. Geny te mogą mieć potencjał jako nowe markery i cele terapeutyczne w leczeniu gruczolaków pleomorficznych. Obecnie istnieje tendencja do stosowania (jeśli to możliwe) nieinwazyjnych technik operacyjnych lub zastępowania ich terapią farmakologiczną (np. leczeniem biologicznym).

Wszystkie wnioski znajdują pełne uzasadnienie w wynikach przedstawionych w publikacjach.

Po analizie cyklu publikacji docenić należy, że do tej pory nie opisano ekspresji badanych genów FOXO i MAPK1 w łagodnych guzach ślinianek. Ekspresję genów FOXO i MAPK1 w gruczolakach pleomorficznych i guzach Warthina zbadano po raz pierwszy.

Rozprawa doktorska zawiera 81 pozycje piśmiennictwa. Są one odpowiednio dobrane i wykorzystane w pracy. Blisko 60% pozycji piśmiennictwa stanowią publikacje z ostatnich 10 lat (2014-2024).

Rozprawa napisana jest poprawnie językowo, błędów literowych i interpunkcyjnych nie zauważyłem.

Podsumowując, stwierdzam, że

1. Praca lek. Katarzyny Kolary-Siekierskiej jest samodzielnym dorobkiem Doktorantki.
2. Dobór tematyki pracy był właściwy, a zastosowana metodologia adekwatna.
3. Materiał obejmował szeroką i oryginalną grupę.
4. Doktorantka wykazała się doskonałą znajomością zagadnienia, sprawną interpretacją wyników badań i umiejętnościami korzystania z literatury.
5. Praca wniosła szereg pionierskich informacji, mających w przyszłości dać przełożenie na praktykę kliniczną.

Reasumując, stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Katarzyny Kolary-Siekierskiej napisana pod kierunkiem merytorycznym dr hab. n. med., prof. CMKP Jarosława Miłośkiego, spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn, zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz. 1669 z późn,zm.).

Jednocześnie biorąc pod uwagę jakość opracowania, pionierski dobór tematyki pracy, szeroki materiał badawczy i wartość sumaryczną IF cyklu prac opublikowanych po raz pierwszy w literaturze naukowej, a zawartych w niniejszej rozprawie **wnioskuje o jej Wyróżnienie.**

Przedkładam wniosek Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Warszawie o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

KIEROWNIK
KLINIKI OTOLARYNGOLOGII
Wojkowego Instytutu Medycyny Lotniczej

dok. rez., dr hab. n. med. Andrzej WOJDAS
prof. WIML