

Łódź, dn. 03.06.2022

Prof. dr hab. n. med. Jurek Olszewski
Kierownik II Katedry Otolaryngologii
Klinika Otolaryngologii
Onkologii Laryngologicznej, Audiologii i Foniatrii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
90-549 Łódź, ul. Żeromskiego 113

Ocena

Rozprawy doktorskiej lek. Pauliny Magdaleny Lepki

pt.

„Porównanie wyników cytologii szczoteczkowej z wynikiem badania histopatologicznego w stanach przednowotworowych i nowotworach krtani”

Z dostępnego piśmiennictwa i danych klinicznych wynika, że rak krtani stanowi ok. 1,1% wszystkich chorób nowotworowych i jest najczęstszym nowotworem w zakresie głowy i szyi. Decydującym badaniem potwierdzającym rozpoznanie raka krtani jest wynik badania histopatologicznego tkanki, uzyskanej podczas zabiegu diagnostyczno-leczniczego (bezpośrednia laryngoskopia wykonywana w znieczuleniu ogólnym dotchawiczym). W celu obniżenia kosztów leczenia oraz skrócenia czasu oczekiwania, zarówno na sam zabieg, jak i wynik badania, można rozważyć zastosowanie innych, pomocniczych procedur wykorzystywanych, zarówno w ginekologii, jak i pulmonologii, gdzie narzędziem stosowanym w diagnozowaniu oraz kontrolowaniu raka szyjki macicy oraz raka płuca i oskrzela jest cytologia szczoteczkowa, która zapewne nie zastąpi jednak badania histopatologicznego.

Stąd też podjęcie pracy, dotyczącej oceny porównania wyników cytologii szczoteczkowej z wynikami badania histopatologicznego w stanach przednowotworowych i nowotworach krtani, jest jak najbardziej celowe i trafnie wybrane.

Celem pracy doktorskiej było:

- Zbadanie, czy w cytologii szczoteczkowej jest możliwa ocena stanów przednowotworowych oraz nowotworowych krtani.
- Określenie korelacji wyników cytologii szczoteczkowej z badaniem histopatologicznym materiału z biopsji chirurgicznej pobranej z tej samej okolicy krtani.
- Wykazanie, czy cytologia szczoteczkowa jako procedura małoinwazyjna, niezasochłonna i tania, może być wykorzystywana jako badanie wstępne w określeniu charakteru zmian w krtani oraz czy możliwe jest utworzenie algorytmu dla wstępnego etapu diagnostyczno-terapeutycznego w chorobach krtani, w którym cytologia szczoteczkowa byłaby elementem towarzyszącym badaniu endoskopowemu krtani.
- Charakterystyka pacjentów ze zmianami przednowotworowymi i nowotworami krtani.

Praca doktorska oparta jest na cykl trzech publikacji:

1. **Lepka P.**, Hałoń A., Barnaś Sz., Zatoński T.: The combination of brush cytology with the results of histopathological examination in laryngeal cancer diagnosis. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, DOI: 10.2478/ahem-2021-0030. **IF: 0,878, MEiN: 40.**

2. **Lepka P.**, Zatoński T., Barnaś Sz., Jaśkiewicz-Burneiko E., Hałoń A.: Analysis of laryngeal brush biopsy-based cytology results in patients of the 4th Military Teaching Hospital and Polyclinic in Wrocław in years 2019–2020. *Otolaryngol. Pol.*, 2022; 76(2): 1-9, DOI: 10.5604/01.3001.0015.7083. **MEiN:100.**

3. **Lepka P.**, Zatoński T., Barnaś Sz., Lepka P., Hałoń A.: Correlation between brush cytology results and histopathological examination in diagnostic evaluation of precancerous conditions and laryngeal cancer-a prospective study. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, DOI:10.2478/ahem-2022-0015. **IF: 0.878, MEiN: 40.**

Pierwsza praca cyklu jest artykułem poglądowym i stanowi podsumowanie aktualnego stanu wiedzy na temat zastosowania cytologii szczoteczkowej w diagnostyce chorób krtani, w tym stanów przednowotworowych i raków krtani.

Rozwiązaniem, które pozwoliłoby cytologii szczoteczkowej stać się szeroko stosowanym narzędziem diagnostycznym w chorobach krtani byłoby uzyskanie materiału do badania w znieczuleniu miejscowym pod kontrolą nasofiberoskopu.

Prace druga i trzecia powstały w ramach projektów badawczych.

W pierwszym projekcie badawczym, 92 badania cytologiczne zostały ocenione przez Doktorantkę pracy oraz przy współudziale doświadczonego patologa i cytologa Panią prof. dr hab. Agnieszkę Hałoń. Cytologię oceniano na podstawie skali własnej, która polegała na modyfikacji skali Bethesda. Spośród 92 rozmazów, 90 rozmazów poddano ocenie, natomiast 2 były nie diagnostyczne. Oceniano liczne parametry cytologiczne, przyporządkowując uzyskane

wyniki do jednej z pięciu grup: I zmiany cytologicznie łagodne (FI), II zmiana LSIL, III zmiana HSIL, IV zmiana HSIL z cechami inwazji, V ASCUS.

W drugim projekcie badawczym wyniki 90 wykonanych badań cytologicznych zostały zestawione z wynikami badań histopatologicznych poszczególnych pacjentów. Podczas analizy wyników badania histopatologicznego zastosowano następujący podział: I zmiana histopatologicznie łagodna, II zmiana o charakterze śródnabłonkowej neoplazji niskiego stopnia, III zmiana o charakterze śródnabłonkowej neoplazji dużego stopnia, IV rak inwazyjny. Porównując diagnozy oparte na badaniach cytologicznych z wynikami badań histopatologicznych, zaobserwowano silną, istotną statystycznie ($p < 0,001$) współzależność pomiędzy rozpoznaniem na podstawie badań cytologicznych i histopatologicznych. Trafność cytologii szczoteczkowej jako testu diagnostycznego raka krtani w przeprowadzonym badaniu wykazuje czułość i swoistość testu na poziomie 90,9% i 93,5%. Wyniki analizy statystycznej potwierdzają, że cytologia szczoteczkowa może być bardzo dobrym pomocniczym narzędziem diagnostycznym w diagnozowaniu stanów przednowotworowych i raka krtani. Cytologia szczoteczkowa mogłaby być również stosowana w diagnostyce przesiewowej w kierunku raka krtani, w przypadku monitorowania pacjentów z dysplazją lub do oceny odległych skutków leczenia chirurgicznego, zarówno w ramach procedur szpitalnych, jak i ambulatoryjnych.

Łączna ocena publikacji wynosi: **IF=1.756 i pkt MEiN=180**. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. Przedstawiła również oświadczenia, dotyczące udziału pozostałych autorów w tych trzech publikacjach.

W podsumowaniu, dokonanym przez Doktorantkę materiału, metod, wyników i wniosków z cyklu trzech publikacji wynika, że:

Material badań stanowiło 92 pacjentów hospitalizowanych w Klinice Otolaryngologii Chirurgii Głowy i Szyi 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką we Wrocławiu, którzy poddani zostali zabiegowi diagnostyczno-leczniczemu (mikrochirurgii krtani w zestawie Kleinsassera, w znieczuleniu ogólnym).

Do badania zakwalifikowano pacjentów, którzy z powodu choroby krtani wymagali zabiegu mikrochirurgicznego, kryterium wyłączenia natomiast była przebyta radioterapia okolicy głowy i szyi.

Metodyka badań obejmowała: pobieranie materiału cytologicznego przy pomocy jednorazowej, jałowej szczoteczki cytologicznej z prostą końcówką wykonaną z włosia (producenta SooMed o długości 195 mm). Pobrany materiał наносzony był na szkiełko podstawne Thermo Scientific i utrwalany preparatem Cytofix producenta Sanko. Osuszony materiał poddawany był barwieniu hematoksyliną i eozyną.

Wyniki badanych parametrów poddano analizie statystycznej za pomocą testu Statistica version 13.3. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,001$. Zgodność rozkładów empirycznych zmiennych ilościowych z teoretycznym rozkładem gaussowskim weryfikowano za pomocą testu normalności W Shapiro-Wilka, natomiast jednorodność wariancji oceniano za pomocą testu Levene'a. Z kolei istotność różnic przeciętnych wartości zmiennych ilościowych w dwóch grupach weryfikowano za pomocą testu U Manna-Whitneya.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy UM im. Piastów Śląskich we Wrocławiu nr KB-519/2018 z dnia 25 września 2018 roku.

W wynikach badań Doktorantka stwierdziła, że:

Wynik badania cytologicznego częściej był nieprawidłowy i najczęściej stwierdzono HSIL z cechami inwazji.

Brak statystycznie istotnego związku pomiędzy wynikiem badania cytologicznego (FI, LSIL, HSIL, HSIL z cechami inwazji, ASCUS) a ogólną jakością rozmazu, liczebnością komórek, ilością erytrocytów czy stopniem nasilenia stanu zapalnego.

Nieprawidłowy obraz rozmazu cytologicznego najczęściej jest bogato komórkowy, a w przypadku występowania śródnabłonkowej neoplazji, rzadziej stwierdza się cechy nasilonego stanu zapalnego w rozmazie cytologicznym.

Cytologia szczoteczkowa nie jest badaniem konkurencyjnym dla badania histopatologicznego w przypadku rozpoznania raka krtani i nie powinna stanowić o rozpoznaniu onkologicznym, jednak wyniki przeprowadzonych badań wykazują znaczącą zgodność pomiędzy omawianymi badaniami.

Cytologia szczoteczkowa może być bardzo dobrym pomocniczym narzędziem diagnostycznym w przypadku rozpoznawania stanów przednowotworowych i raka krtani, o czym świadczą wskaźniki, takie jak: czułość, swoistość, predykcja dodatnia czy predykcja ujemna powyżej 90%.

Cytologia szczoteczkowa mogłaby być również stosowana w diagnostyce przesiewowej w kierunku raka krtani, w przypadku monitorowania pacjentów z dysplazją lub do oceny odległych skutków leczenia chirurgicznego, zarówno w ramach procedur szpitalnych, jak i ambulatoryjnych.

Istnieje potrzeba dalszych badań nad zastosowaniem cytologii szczoteczkowej w diagnostyce stanów przednowotworowych i raka krtani z uwzględnieniem prób pobierania materiału do badania w znieczuleniu miejscowym pod kontrolą endoskopii.

Wśród badanych pacjentów stan przednowotworowy czy raka krtani rozpoznano częściej: u mężczyzn, u osób z wykształceniem zasadniczym, palących ponad 20 papierosów w ciągu dnia i pijących alkohol, raczej sporadycznie.

Wnioski w liczbie 4 oparte na własnych badaniach i spostrzeżeniach Doktorantki, są rozwiązaniem podjętego celu pracy i przedstawiają się następująco:

1. W badaniu cytologicznym możliwa jest ocena stanów przednowotworowych i nowotworowych krtani.
2. W badanym materiale stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy wynikami cytologii szczoteczkowej, a wynikami badania histopatologicznego materiału z biopsji chirurgicznej pobranej z tej samej okolicy.
3. Cytologia szczoteczkowa jako procedura małoinwazyjna, niezasochłonna i tania mogłaby być wykorzystywana jako badanie wstępne w określeniu charakteru zmian w krtani.
4. Możliwe jest utworzenie algorytmu dla wstępnego etapu diagnostyczno-terapeutycznego w chorobach krtani, w którym cytologia szczoteczkowa byłaby elementem towarzyszącym badaniu endoskopowemu krtani, jednak istnieje potrzeba dalszych badań z uwzględnieniem prób pobrania materiału do badania w znieczuleniu miejscowym, pod kontrolą endoskopii.

Opracowane **streszczenia**, zarówno w języku polskim, jak i angielskim zostały przygotowane w sposób syntetyczny i zawierają wszystkie elementy pracy doktorskiej, co ułatwia czytanie jako całości.

Piśmiennictwo, liczące 58 pozycji, obejmuje doniesienia obcojęzyczne w 93.11% i polskie w 6.89%. Piśmiennictwo zostało dobrane tematycznie i pochodzi z ostatnich 10 lat (poza 17 pozycjami starszymi). Pozycje publikacji: 11 (1951), 18 (1976), 32 (1981), 35 (1949), 45 (1980), 46 (1963) mają już wartość historyczną.

Z obowiązku recenzenta podaję również inne uwagi:

- w przypadku publikowania należy usunąć drobne błędy literowe i interpunkcyjne oraz niektóre niefortunne zdania,
- w niektórych pozycjach piśmiennictwa brak podawania miejsca wydania, roku i stron.

Powyzsze uwagi nie umniejszają istoty wartości przedstawionej do oceny pracy, a są tylko pewnymi sugestiami ułatwiającymi przygotowanie pracy do publikacji.

Stwierdzam, że praca **lek. Pauliny Magdaleny Lepki** stanowi samodzielny dorobek naukowy Autorki, która wykazała znajomość podjętego tematu na równi z umiejętnością prowadzenia pracy naukowej i łącznie z posługiwaniem się piśmiennictwem.

Przedstawiona mi praca odpowiada warunkom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 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.) i na tej właśnie podstawie pozwalam sobie wystąpić do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie **lek. Pauliny Magdaleny Lepki** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
II KATEDRY OTOLARYNGOLOGII
... Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
J. Olszewski
Prof. dr hab. n. med. Jurek Olszewski