

Prof. dr hab. n. med. Ewa Mrukwa-Kominek  
Klinika Okulistyki Katedry Okulistyki  
Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach  
SUM w Katowicach

Katowice 18.11.2020

**OCENA**  
**rozprawy na stopień doktora nauk medycznych**  
**lekarza Tomasza Berusa**  
**pt.: Nowe histomorfologiczne i immunohistochemiczne**  
**czynniki prognostyczne w czerniaku gałki ocznej.**

Czerniak błony naczyniowej jest najczęstszym pierwotnym nowotworem wewnątrzgałkowym oka osób dorosłych. Częstość jego występowania w populacji kaukaskiej to 7-8/1000 000 osób rocznie. Wiadomym jest, iż czerniaki wewnątrzgałkowe w 85% rozwijają się w naczyniówce, w 9% w ciele rzęskowym, w 6% w tęczęwce, najczęściej jednostronnie.

Pomimo postępów w zakresie leczenia pierwotnego nowotworu, śmiertelność związana z czerniakiem błony naczyniowej wciąż pozostaje wysoka. Choć czerniak błony naczyniowej stanowi zaledwie 5% wszystkich przypadków czerniaka, to odpowiada za 13% zgonów związanych z tym nowotworem. Istnieje wiele opcji terapeutycznych takich jak: brachyterapia, terapia wiązką protonów, termoterapia przezręczniczna, koagulacja laserowa, endoresekcja, resekcja lokalna czy enukleacja. Mimo to, w ponad połowie przypadków dochodzi do powstania przerzutów. Szerzenie nowotworu następuje drogą krwi, a najczęstszą lokalizacją przerzutów jest wątroba (89%), rzadziej płuca (29%) oraz kości (17%).

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek. Tomasza Berusa dotyczy bardzo aktualnego tematu, gdyż mimo ogromnego postępu w metodach diagnostyki i leczenia nowotworów wewnątrzgałkowych, nadal istnieje konieczność poszukiwania nowych parametrów mających znaczenie w ich rozwoju oraz czynników, które z większą precyzją będą określały rokowanie pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej.

Rozprawa doktorska lek. Tomasza Berusa powstała w oparciu o cykl trzech spójnych tematycznie publikacji pełnotekstowych opublikowanych w czasopiśmie z Listy

Filadelfijskiej, posiada przyjęty układ dla tego typu dysertacji, zawiera publikacje, o które oparta jest praca, opatrzone wstępem i posumowaniem oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Dodatkowo Autor umieścił oświadczenia o jego i współautorów wkładzie w opracowanie koncepcji, wykonanie, opracowanie i interpretacje wyników umieszczonych w publikowanych pracach, opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (Nr KB-125/2018) oraz wykaz dorobku naukowego.

W zwięzłym rozdziale „Wstęp”, przytacza najważniejsze dane dotyczące czerniaka błony naczyniowej jako najczęstszego pierwotnego nowotworu wewnątrzgałkowego, częstości występowania i metod jego leczenia. Zwraca uwagę na guzy przerzutowe i ich wykrywanie, wpływ zarówno diagnostyki jak i metod leczenia na skuteczność wyleczenia i śmiertelność. Skupia się na parametrach klinicznych i histopatologicznych mających wpływ na rokowanie, zarówno co do przerzutów jak i na poszukiwanie nowych czynników prognostycznych i predykcyjnych stanowiących potencjalne cele terapeutyczne. Wstęp poparty został 43 pozycjami literatury polskiej i światowej w większości z ostatnich 10 lat.

Uważam, iż Doktorant zapoznał się z dostępnym piśmiennictwem światowym i posiada wiedzę dotyczącą tematu, o czym świadczą również publikacje w wysokopunktowanych czasopismach branżowych.

Lek Tomasz Berus jasno przedstawia założenia i cele pracy. Celami niniejszej rozprawy doktorskiej, składającej się z trzech powiązanych tematycznie artykułów pełnotekstowych (przytoczonych powyżej) opublikowanych w czasopismach z Listy Filadelfijskiej, są:

1. Usystematyzowanie dostępnych danych na temat czynników rokowniczych w czerniaku błony naczyniowej.
2. Ocena wartości rokowniczej cech morfologicznych jąder komórek czerniaka błony naczyniowej.
3. Ocena wartości rokowniczej ekspresji kinazy PLK1 w komórkach czerniaka błony naczyniowej.

Opisuje szczegółowo cele pracy, które uzasadnia koniecznością:

1. Zebrania informacji na temat parametrów klinicznych, histomorfologicznych, jak i cytogenetycznych, co pozwoli na poznanie bieżącego stanu wiedzy w tym zakresie w możliwie szerokim spektrum.
2. Oceny parametrów związanych z jąderkami jąder komórkowych, które były jednymi z historycznie pierwszych branych pod uwagę w przewidywaniu przebiegu chorób nowotworowych. W wielu z nich okazywały się mieć znaczenie prognostyczne.

Oceny znaczenia prognostycznego wybranych parametrów cytomorfologii jąderek (obecność, wielkość, liczba w pojedynczej komórce) u pacjentów z czerniakiem gałki ocznej. Uzyskane dane są skorelowane z parametrami klinicznymi i histomorfologicznymi, a także z informacjami dotyczącymi przeżycia.

3. Uwzględnia pełnionej przez kinazę serynowo-treoninową PLK1 centralnej roli w koordynacji mitozy i cytokinezy, a co za tym idzie w proliferacji komórek. Dodatkowym argumentem są doniesienia o potwierdzonym związku PLK1 z rokowaniem w innych nowotworach, a także trwające badania nad stosowaniem inhibitorów PLK1, jako potencjalnych środków terapeutycznych w tych chorobach. Celem badania jest immunohistochemiczna ocena ekspresji białka PLK1 w komórkach nowotworowych UM oraz analiza korelacji parametrów ekspresji PLK1 ze szczegółowymi danymi klinicznohistopatologicznymi oraz przeżyciem pacjentów.

Badania przeprowadzono na grupie 164 pacjentów leczonych w latach 2002-2011 z zastosowaniem pierwotnej enukleacji w Klinice Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Włączenie pacjentów do badania następowało na podstawie dostępnej dokumentacji i materiału tkankowego. Szczegółowe dane kliniczne uzyskano z archiwum Oddziału Klinicznego Okulistyki i Onkologii Okulistycznej oraz Poradni Onkologii Okulistycznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

Zebrane informacje obejmowały: wiek i płeć, oko zajęte procesem chorobowym, wysokość i największą średnicę podstawy guza, stratyfikację guza zgodnie z AJCC (pT oraz stage), lokalizację guza w stosunku do równika gałki ocznej, zajęcie ciała rzęskowego, pigmentację oraz kształt guza, współistnienie jaskry i/lub odwarstwienia siatkówki, podtyp histologiczny, naciek twardówki i/lub nerwu wzrokowego, obecność martwicy w obrębie guza. Dodatkowo uwzględniono szczegółowe parametry histopatologiczne, takie jak: wskaźnik mitotyczny, obecność nacieku limfocytarnego (TILs, tumor-infiltrating lymphocytes), pseudoinkluzji jądrowych (NPIs, nuclear pseudo-inclusions), bruzd wewnątrzjądrowych, wielojądrowych komórek olbrzymich oraz wylewów krwi, a także ilość barwnika w komórkach nowotworowych. Dla opisu wysokości i największej średnicy podstawy guza przyjęto wytyczne American Joint Committee on Cancer (AJCC), a także dokonano podziału zgodnego z zastosowanym w badaniu Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS).

Poddana ocenie została cytomorfologia jąderek w komórkach czerniaka.

Wyniki swoich analiz opublikował w trzech pracach przedstawionych jako cykl publikacji.

1. Tomasz Berus, Agnieszka Hałoń, Anna Markiewicz, Jolanta Orłowska-Heitzman, Bożena Romanowska-Dixon, Piotr Donizy.: Clinical, Histopathological and Cytogenetic Prognosticators in Uveal Melanoma - A Comprehensive Review Anticancer Res. 2017 Vol.37 no.12; s.6541-6549 **IF: 1.865; MNiSW: 20.000**
2. Tomasz Berus, Anna Markiewicz, Przemysław Biecek, Jolanta Orłowska-Heitzman, Agnieszka Hałoń, Bożena Romanowska-Dixon, Piotr Donizy.: Clinical Significance of Nucleoli Cytomorphology Assessment in Patients With Uveal Melanoma Anticancer Res. 2020 Vol.40 no.6; s.3505-3512 **IF: 1.994; MNiSW: 70.000**
3. Tomasz Berus, Anna Markiewicz, Katarzyna Kobylńska, Przemysław Biecek, Jolanta Orłowska-Heitzman, Bożena Romanowska-Dixon, Piotr Donizy.: Downregulation of Polo-like kinase-1 (PLK-1) expression is associated with poor clinical outcome in uveal melanoma patients Folia Histochem Cytobiol. 2020 Vol.58 no.2; s.108-116 **IF: 0.854; MNiSW: 70.000**

**Pierwsza praca** stanowiąca element rozprawy doktorskiej jest pracą przeglądową, która pozwoliła na usystematyzowanie dostępnych danych na temat parametrów mających znaczenie rokownicze w tym typie nowotworu. Na tej podstawie dokonano wyboru dalszego kierunku badań i, po ich wykonaniu, przedstawiono wartość prognostyczną parametrów cytomorfologicznych jąder komórkowych oraz ekspresji kinazy serynowo-treoninowej PLK1 w czerniaku błony naczyniowej.

W **drugiej publikacji** wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej porusza zagadnienia związane z wartością rokowniczą cech cytomorfologicznych jąder komórkowych. Wyboru ocenianych parametrów dokonał mając na uwadze praktyczną stronę badania, uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że sama obecność jąder ma niewielkie znaczenie, natomiast znaczenie ma ich większy rozmiar i większa liczba. Parametry te korelowały z istotnymi dla przebiegu czerniaka czynnikami jak: większa średnica podstawy guza, wyższy kliniczny stopień zaawansowania guza pierwotnego, zajęcie ciała rzęskowego. Z kolei korelacja z parametrami histopatologicznymi wykazała, że obecność makrojąder i mnogich jąderk jest istotnie z podtypem nabłonkowatokomórkowym guza pierwotnego, wysokim wskaźnikiem mitotycznym, pleomorfizmem, występowaniem wielojądrowych komórek olbrzymich oraz pseudoinkluzji wewnątrzjądrowych a także brakiem bruzd wewnątrzjądrowych. Stwierdza, iż zarówno występowanie makrojąder, jak i

mnoгих jąderek wiązały się z istotnie krótszym przeżyciem wolnym od choroby oraz przeżyciem całkowitym w czerniaku błony naczyniowej oka.

**Trzecia praca** jest związana z określeniem prognostycznym znaczenia ekspresji białka PLK1. W przeprowadzonym badaniu wykazano, że w przypadku czerniaka błony naczyniowej to niska ekspresja PLK1 związana jest z niektórymi znanymi negatywnymi czynnikami rokowniczymi takimi jak: większa średnica podstawy guza pierwotnego, wyższy stopień zaawansowania klinicznego. Związana jest także z istotnie krótszym przeżyciem całkowitym, a w relacji z przeżyciem wolnym od choroby obserwowano podobny trend, ale nie uzyskując poziomu istotności statystycznej.

Lek Tomasz Berus podsumowuje publikacje i wyciąga właściwe wnioski, które są odpowiedzią na postawione cele pracy. Wnioskuje, iż

1. Obecność makrojąderek i mnogich jąderek w jądrach komórek to negatywne czynniki prognostyczne, których obecność jest istotnie skorelowana z gorszym rokowaniem pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej oka.
2. Ocena morfologii jąderek w rutynowym barwieniu hematoksyliną i eozyną może być tanią i relatywnie prostą metodą uzyskania wiarygodnych informacji prognostycznych w czerniaku błony naczyniowej (UM).
3. Niska ekspresja PLK1 w komórkach nowotworowych guza pierwotnego UM jest związana z gorszą prognozą długoterminową pacjentów z czerniakiem gałki ocznej (wykazano istotnie krótszy czas przeżycia całkowitego u pacjentów z obniżoną ekspresją PLK1 w komórkach nowotworowych).

Należy zauważyć, iż każda z prac, opublikowana w recenzowanym, wysokopunktowym czasopiśmie branżowym, prócz posumowania zawiera ciekawą dyskusję, porównującą uzyskane wyniki z piśmiennictwem i bardzo celne wnioski.

Piśmiennictwo, prócz zawartego w opublikowanych pracach, uzupełnia dodatkowo 43 pozycjami literatury krajowej oraz zagranicznej, które poprawnie cytuje we „Wstępie”.

Należy zauważyć, iż materiał graficzny zawarty w dwóch opublikowanych pracach jest bardzo dobrej jakości i odzwierciedla analizowany materiał.

Poddana ocenie dysertacja jest oryginalnym wkładem autora do wiedzy na ten temat. Porusza ważny problem parametrów mających znaczenie dla rozwoju czerniaka błony naczyniowej, ustalenia czynników które z większą precyzją będą określały rokowanie pacjentów w zależności od podtypu czerniaka. Z kolei w przedstawionych publikacjach Doktorant prezentuje bardzo wysoki poziom warsztatu naukowo-badawczego.

W opublikowanych pracach daje się poznać jako badacz, który w bardzo umiejętny sposób wiąże swoją wiedzę okulistyczną, z tą w zakresie badań histomorfologicznych i immunohistochemicznych, co zasługuje na uznanie.

Mając na uwadze wartość merytoryczną i praktyczną Rozprawy Doktorskiej lek. Tomasza Berusa zatytułowanej „**Nowe histomorfologiczne i immunohistochemiczne czynniki prognostyczne w czerniaku gałki ocznej.**” zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie mając na uwadze powyższe jak też całokształt przeprowadzanych badań wnioskuję o wyróżnienie Rozprawy.

*Prof. dr hab. n. med. Ewa Mrukwa-Kominek*

  
KIEROWNIK  
Katedry Okulistyki  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach  
*prof. dr hab. n. med. Ewa Mrukwa – Kominek*