



Białystok, 16.04.2019 r.

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lekarz medycyny Agnieszki Kardynał

pt. „Nieinwazyjne metody obrazowania w rozpoznawaniu wczesnego czerniaka skóry”

przeprowadzona na wniosek Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu
Medycznego

Przedmiotem rozprawy doktorskiej lekarz Agnieszki Kardynał są nieinwazyjne metody obrazowania w rozpoznawaniu wczesnego czerniaka skóry. Czerniak skóry jest złośliwym nowotworem wywodzącym się z neuroektodermalnych komórek melanocytarnych. Może rozwinąć się „de novo” lub powstać na podłożu wcześniej istniejących znamion barwnikowych. Jest nowotworem o największej dynamice wzrostu liczby zachorowań. Szacuje się, że liczba chorych z czerniakiem skóry w ostatnich 30 latach wzrosła 5-krotnie. Zwiększone ryzyko zachorowania na czerniaka skóry ma związek z wieloma czynnikami, do których należą m.in.: wiek, płeć, fototyp skóry, ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe, przebyte oparzenia słoneczne, duża liczba znamion barwnikowych, predyspozycja genetyczna i osobniczy wywiad w kierunku czerniaka.

Wzrastająca zapadalność na czerniaka w ostatnich latach oraz trudności diagnostyczne zwłaszcza we wczesnych stadiach choroby stały się powodem badań nad wykrywaniem dodatkowych, zwłaszcza środowiskowych czynników ryzyka rozwoju czerniaka oraz wprowadzenia do diagnostyki czerniaka nieinwazyjnych badań obrazowych jak wideodermoskopia czy refleksyjna mikroskopia konfokalna. Zastosowanie tych metod jest istotne szczególnie we wczesnym rozpoznawaniu czerniaka. Zaletami dermoskopii i wideodermoskopii jest również możliwość monitorowania zmian i ograniczenie wykonywania nadmiernej liczby zabiegów chirurgicznych u osób z licznymi znamionami barwnikowymi. Natomiast metoda refleksyjnej mikroskopii konfokalnej in vivo,

umożliwiająca nieinwazyjną wizualizację naskórka i skóry właściwej w czasie rzeczywistym z prawie histologiczną rozdzielczością i dobrym kontrastem, stanowi uzupełniające badanie i zwiększa szansę rozpoznania w wielu przypadkach, m.in. czerniaka bezbarwnikowego.

Najważniejszym czynnikiem rokowniczym u chorych z czerniakiem skóry zaawansowanym lokalnie jest grubość według skali Bresłowa, dlatego wczesne rozpoznawanie czerniaków oraz różnicowanie ich z łagodnymi zmianami melanocytowymi są szczególnie istotne. W dostępnym piśmiennictwie nie ma wielu badań, które wskazywałyby na możliwość różnicowania czerniaków o różnym stopniu zaawansowania miejscowego przy pomocy wideodermoskopii i refleksyjnej mikroskopii konfokalnej. Stąd też niezwykle cenne jest podjęcie przez Doktorantkę badań dotyczących ustalenia możliwości wykorzystania nieinwazyjnych metod obrazowania do rozpoznawania wczesnego czerniaka. Problematyka podjętych badań jest ciekawa i nowatorska, ale też niezwykle przydatna w praktyce klinicznej. Temat rozprawy doktorskiej uważam za trafny, doskonale wpisujący się w aktualny nurt współczesnych badań dotyczących nowotworów skóry.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lekarz Agnieszki Kardynał liczy 257 stron, zawiera 61 niezwykle starannie wykonanych rycin oraz 7 tabel, i aż 480 aktualnych, prawidłowo dobranych pozycji piśmiennictwa. Rozprawa ma typowy układ i jest wzorowo przygotowana pod względem edytorskim. Właściwą treść pracy poprzedzają spis rycin i tabel oraz wykaz najczęściej używanych skrótów, co w znaczny sposób ułatwia śledzenie rozprawy. Praca jest poprawnie zredagowana, a sposób prezentacji nie budzi zastrzeżeń.

Wstęp rozprawy doktorskiej składa się z kilku rozdziałów, napisany jest dojrzałe i przejrzyste. Doktorantka umiejętnie wprowadza czytelnika w problematykę przedmiotu badań i przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący epidemiologii i czynników predysponujących do zachorowania na czerniaka, jak też omawia szczegółowo kliniczne i histologiczne typy czerniaka, znaczenie markerów nowotworowych i badań immunohistochemicznych, zasady postępowania diagnostyczno-terapeutycznego oraz rokowanie u pacjentów z czerniakiem.

Na szczególne wyróżnienie zasługuje rozdział poświęcony diagnostyce obrazowej, w którym Doktorantka szczegółowo opisuje algorytmy diagnostyczne zmian barwnikowych oraz cechy dermoskopowe czerniaka, a także dokładnie omawia obrazy poszczególnych typów czerniaka w refleksyjnej mikroskopii konfokalnej. Rozdział ten stanowi cenny materiał edukacyjny i dodatkowo podkreśla praktyczne znaczenie podjętej w rozprawie tematyki. Całość obszernego wstępu stanowi wartościowy element rozprawy, w pełni zapewnia

wprowadzenie w tematykę badań własnych i świadczy o dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki.

Za cel pracy Autorka postawiła sobie ustalenie możliwości wykorzystania nieinwazyjnych metod obrazowania do rozpoznawania wczesnego czerniaka, w tym w szczególności ustalenie możliwości różnicowania przy pomocy badania wideodermoskopowego oraz metody refleksyjnej mikroskopii konfokalnej czerniaków we wczesnym (cienkich, ≤ 1 mm w skali Breslowa) i późnym (grubych, > 1 mm w skali Breslowa) stadium zaawansowania lokalnego. Wartościowym celem postawionym przez Doktorantkę było również ustalenie czy metoda wideodermoskopii i metoda refleksyjnej mikroskopii konfokalnej pozwalają na różnicowanie czerniaków we wczesnym stadium zaawansowania lokalnego z łagodnymi zmianami melanocytowymi. Za cenne należy uznać też podjęcie próby ustalenia czynników endogennych i egzogennych, które wpływają na stopień lokalnego zaawansowania czerniaka w chwili rozpoznania. Należy podkreślić, że przedstawione przez Doktorantkę cele badawcze zostały w pełni zrealizowane w dalszych częściach rozprawy doktorskiej, co świadczy o dużej umiejętności planowania badań naukowych.

W rozdziale **material i metody** Doktorantka dokładnie charakteryzuje grupę 347 pacjentów włączonych do badania, z potwierdzonym histopatologicznie czerniakiem skóry. U 264 pacjentów Doktorantka przeprowadziła analizę czynników ryzyka rozwoju czerniaka w oparciu o szczegółowy, standaryzowany wywiad oraz badanie przedmiotowe, obejmujące między innymi ocenę fototypu, liczbę znamion barwnikowych i badanie dermoskopowe wszystkich znamion barwnikowych. Ponadto u 260 osób wykonano rozszerzone badania laboratoryjne. Badanie wideodermoskopowe czerniaków wykonano u 121 osób, a metodą refleksyjnej mikroskopii konfokalnej przeprowadzono u 47 pacjentów. Grupę kontrolną stanowiło 265 zdrowych osób dobranych pod względem płci i wieku. Kryteria oraz zasady oceny stanu klinicznego pacjentów zostały przedstawione w sposób wskazujący na prawidłowe przeprowadzenie rekrutacji, kwalifikacji do grup i monitorowania uczestników badania. Na podkreślenie zasługuje fakt starannego opisu wszystkich zastosowanych metod badawczych wraz z ich dokładną procedurą. Zastosowana metodologia odpowiada obecnym standardom prowadzenia tego rodzaju badań i nie budzi zastrzeżeń. Na przeprowadzenie badania zgodę wyraziła Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (nr decyzji KB/146/2005) z dnia 28.07.2009 r.

Analiza statystyczna otrzymanych wyników została przeprowadzona starannie z zastosowaniem odpowiednich testów, co oczywiście podnosi wartość naukową badań Doktorantki.

Wyniki przeprowadzonych badań stanowią bardzo wartościową część pracy. Zostały opracowane sumiennie i starannie. Doktorantka przedstawiła je w sposób niezwykle szczegółowy i bardzo dobrze zilustrowany czytelnymi rycinami i tabelami, które wraz z ich precyzyjnym opisem ułatwiają zrozumienie rozprawy doktorskiej. Na podkreślenie zasługują również bardzo wysokiej jakości fotografie obrazów wideodermoskopowych i mikroskopii konfokalnej. Uderza kompleksowość i mnogość dokonanych analiz, co jest w moim odczuciu dużym walorem recenzowanej pracy doktorskiej.

W wynikach zawartych w przedstawionej mi do oceny pracy Doktorantka zauważa, że w badaniu metodą wideodermoskopii w czerniakach cienkich w stosunku do czerniaków grubych istotnie statystycznie częściej występuje: kolor jasnobrązowy, atypowa siatka barwnikowa, atypowe kropki lub atypowe ciała, smugi gałązkowate i nieregularny brzeg zmiany. Natomiast cechami istotnie statystycznie częstszymi w czerniakach o grubości >1 mm. w stosunku do czerniaków o grubości ≤ 1 mm. są: kolor czerwony, atypowe naczynia krwionośne i obszary różowe. Dodatkowo Autorka udokumentowała, że istotnie statystycznie częściej w czerniakach (niezależnie od ich grubości) niż w znamionach barwnikowych występuje: kolor szaroniebieski, kolor biały, atypowa siatka barwnikowa, cechy regresji, białoniebieski welon, atypowe naczynia krwionośne, obszary różowe i asymetryczne rozmieszczenie struktur dermoskopowych.

W badaniach metodą refleksyjnej mikroskopii konfokalnej Doktorantka zaobserwowała, że ostre zarysy brodawek skórnych występują istotnie statystycznie częściej w czerniakach cienkich niż grubych, a w czerniach grubych częściej: liczne atypowe melanocyty w naskórku, komórki okrągłe w naskórku, nieostre zarysy brodawek skórnych i atypowe gniazda melanocytów. Co ważne, udokumentowała, że refleksyjna mikroskopia konfokalna pozwala na różnicowanie czerniaków i zmian łagodnych.

Dodatkowo Doktorantka analizowała czynniki endogenne i egzogenne, wpływające na stopień lokalnego zaawansowania czerniaka w momencie rozpoznania. Na podstawie tej analizy wykazała m.in., że średnia grubość czerniaka była istotnie statystycznie mniejsza u kobiet niż u mężczyzn. Czerniak istotnie częściej lokalizował się na skórze tułowia u mężczyzn, a u kobiet na kończynach dolnych. Natomiast średnia grubość czerniaka była największa w przypadku czerniaków zlokalizowanych na skórze kończyn górnych, a największy odsetek czerniaków cienkich stwierdzono w przypadku zmian zlokalizowanych na

skórce głowy lub szyi. Autorka udokumentowała też, że średnia grubość czerniaka w skali według Breslowa była istotnie statystycznie niższa u osób z licznymi (≥ 50) znamionami barwnikowymi w porównaniu do osób z mniejszą liczbą znamion. Potwierdza to, że znamiona barwnikowe mogą być czynnikiem ryzyka zachorowania na czerniaka skóry. W swojej pracy Doktorantka nie stwierdziła istotnej statystycznie różnicy w średniej grubości czerniaka w zależności od fototypu skóry, ale co ciekawe wykazała, że średnia grubość czerniaka u pacjentów, którzy przed rozpoznaniem nowotworu mieli wykonane przynajmniej jedno badanie dermoskopowe zmian skórnych była istotnie statystycznie mniejsza w porównaniu do osób, u których nigdy wcześniej nie przeprowadzono kontrolnego badania dermoskopowego. Wyniki Doktorantki wskazują również, że średnia grubość czerniaka w grupie osób stosujących preparat z filtrem UV o dowolnym wskaźniku ochrony przeciwsłonecznej, była znamienne statystycznie mniejsza niż średnia grubość nowotworu u osób, które nigdy nie stosowały preparatów z filtrem UV. Autorka zaobserwowała też, że u osób przebywających powyżej 4 godzin na dobę poza pomieszczeniami zamkniętymi przez co najmniej 5 lat, średnia grubość czerniaka była istotnie statystycznie większa w porównaniu ze średnią grubością czerniaka w grupie osób nie przebywających tak długo na zewnątrz, ale może to również wynikać nie tylko z ekspozycji na promieniowanie, ale również z braku stosowania fotoprotekcji. Z obserwacji zawartych w pracy wynika również, że u pacjentów z czerniakiem palących papierosy, średnia grubość czerniaka była największa u osób palących papierosy powyżej 10 paczkolet.

Dyskusja jest obszerna i stanowi szczególnie wartościową część rozprawy. Napisana została logicznie, z krytyczną interpretacją wyników badań własnych na tle właściwie dobranego piśmiennictwa, co świadczy o bardzo dobrej znajomości tematu, umiejętności posługiwania się literaturą naukową i potwierdza dojrzałość naukową Doktorantki.

Całość rozprawy kończy pięć, uważnie przemyślanych **wniosek**, które podsumowują uzyskane wyniki badań a jednocześnie odpowiadają postawionym przez autorkę celom rozprawy. Każdy z nich jest przydatny klinicznie, zarówno w procesie diagnostycznym, jak i terapeutycznym. Według mojej oceny bardzo istotne wydają się wnioski, w których Doktorantka przedstawia cechy wideodermoskopowe oraz cechy w badaniu metodą refleksyjnej mikroskopii konfokalnej pozwalające na zróżnicowanie czerniaków we wczesnym okresie zaawansowania od czerniaków w późniejszym stadium zaawansowania lokalnego oraz cechy różnicujące czerniaki we wczesnym okresie zaawansowania od łagodnych zmian melanocytowych. Ciekawy jest również wniosek dotyczący analizy

czynników związanych z wyższym stopniem lokalnego zaawansowania czerniaka w momencie rozpoznania.

Piśmiennictwo rozprawy jest bardzo obszerne, trafnie wyselekcjonowane, a jego dobór potwierdza bardzo dobrą znajomość dostępnej i aktualnej literatury tematu poruszanego w rozprawie.

Podsumowując, rozprawę doktorską lekarz medycyny Agnieszki Kardynał oceniam bardzo wysoko. Jest to cenna pozycja zarówno pod względem poznawczym, jak i praktycznym. Metodologia badań została zaplanowana i zrealizowana prawidłowo, a otrzymane wyniki potwierdzają słuszność decyzji w wyborze tematu badań. Całość rozprawy przeczytałam z ogromnym zainteresowaniem, jej treść dokumentuje, że Doktorantka posiadała odpowiednie umiejętności dotyczące planowania i realizacji zadań badawczych oraz wyciągania wniosków. Pracę cechuje rzetelność, trzymanie się wyznaczonego kierunku badań, staranność i ciekawa szata graficzna. Jednocześnie mam nadzieję, że dopełnieniem rozprawy staną się publikacje pozwalające upowszechnić uzyskane wyniki badań.

Na podstawie powyżej przedstawionych danych, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska lekarz medycyny Agnieszki Kardynał pt. „Nieinwazyjne metody obrazowania w rozpoznawaniu wczesnego czerniaka skóry” **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.2016 poz.882 z późn.zm.)**. Mam więc zaszczyt przedłożyć Panu Dziekanowi oraz Wysokiej Radzie I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego moją pozytywną ocenę rozprawy wraz z wnioskiem o dopuszczenie lekarz medycyny Agnieszki Kardynał do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wysoka merytoryczna ocena rozprawy, rzetelność analizy oraz wartość poznawcza w pełni upoważniają mnie do wystąpienia z wnioskiem do Wysokiej Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lekarz medycyny Agnieszki Kardynał.

prof. dr hab. n. med. Iwona Flisiak

K I E R O W N I K
Kliniki Dermatologii i Wenerologii

Iwona Flisiak

prof. dr hab. n. med. Iwona Flisiak