

Łódź, dn. 08.12.2022

**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

#### **Recenzja**

**Rozprawy doktorskiej lek. Przemysława Banta**

**pt.**

**„Wybrane badania immunohistochemiczne w diagnostyce różnicowej chorób  
migdałków podniebiennych”**

Z dostępnego piśmiennictwa i danych klinicznych wynika, że w zmienionych chorobowo migdałkach podniebiennych może dochodzić do wzmożonej aktywności czynników prozapalnych. Jednym z nich jest CD25, który jest białkiem kodowanym przez gen IL2RA. Jest to białko przezłonowe obecne w aktywowanych limfocytach, zwłaszcza w limfocytach T-regulatorowych.

Kolejnym charakterystycznym markerem jest CD40. Występuje na limfocytach B, a po połączeniu ze swoim ligandem - CD154 obecnym na aktywowanych limfocytach T, dostarcza niezbędnego sygnału do zainicjowania odpowiedzi humoralnej.

Istotne znaczenie w chorobach migdałków podniebiennych może mieć CD69. Przebywanie w środowisku tkankowym zależy od zdolności komórek T do pokonywania sygnałów wyjściowych.

Kolejnym ze szlaków wpływających na wyjście komórek T z układu limfatycznego jest stymulacja CCR7. Jego produkcja jest regulowana pozytywnie przez KLF2, a zatem blokada KLF2 może wpłynąć na migrację limfocytów zależną od CCR7.

Ważne znaczenie wykazuje również IL-1. Rodzina cytokin interleukin-1 (IL-1) odgrywa główną rolę w modulowaniu odporności wrodzonej i indukcji odpowiedzi zapalnej.

Należy zwrócić uwagę na IL-10, która znana jest jako „czynn timer hamujący syntezę cytokin” (CSIF). To silna cytokina o działaniu przeciwzapalnym wytwarzana przez linie komórkowe Th2. Jest zdolna do hamowania ekspresji cytokin przez wpływ na linie komórkowe Th1 oraz ograniczanie odpowiedzi zapalnej poprzez wpływ na różne komórki układu immunologicznego.

Cytokiny z rodziny IL-1 mają różne odpowiedzi immunoregulacyjne. W jej skład wchodzi 11 białek, z których 7 (IL-1a, IL-1b, IL-18, IL-33, IL-36a, IL-36b i IL-36c) ma działanie prozapalne, a IL-1Ra, IL-36Ra, IL-38 i IL-37 mają właściwości przeciwzapalne. IL-37 tłumi zarówno wrodzoną, jak i nabytą odpowiedź immunologiczną. Jest wytwarzana przez kilka typów komórek, w tym limfocyty B migdałków podniebiennych.

Kolejną cytokiną, której rola w patogenezie chorób migdałków podniebiennych jest niezwykle istotna stanowi IL-8. Należy ona do rodziny chemokin CXC, która została zidentyfikowana jako czynnik chemotaktyczny aktywujący neutrofile.

Istotną rolę w chorobach migdałków podniebiennych ogrywa także IL-6. Jest to cytokina o budowie cztero-helikalnej uważana za jedną z najważniejszych cytokin prozapalnych.

IL-2 jest kolejną cytokiną o istotnej roli w patogenezie chorób migdałków podniebiennych. Została odkryta jako autokryny czynnik wzrostu dla komórek T. Ma ona kluczowe znaczenie dla utrzymania aktywnych funkcjonalnie komórek Treg.

Zatem podjęcie pracy, dotyczącej badań immunohistochemicznych w diagnostyce różnicowej chorób migdałków podniebiennych jest jak najbardziej celowe i trafnie wybrane.

Rozprawa w formie wydruku komputerowego zawiera 55 tabel i 11 rycin oraz podzielona jest na 11 głównych rozdziałów: wykaz skrótów, wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metodyka badań, wyniki badań, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, piśmiennictwo, aneks.

**We wstępie** Doktorant przedstawił anatomię i fizjologię oraz patologię migdałków podniebiennych, w których dochodzi do wzmożonej aktywności czynników prozapalnych takich jak: CD25, CD40, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10.

Rozdział ten jest napisany w sposób syntetyczny i obejmuje 6 stron oraz oparty jest na podstawie polskiego i anglojęzycznego piśmiennictwa.

#### **Celem pracy była:**

- analiza zależności pomiędzy badaniem podmiotowym i przedmiotowym a rozpoznaniem histopatologicznym danego stanu chorobowego migdałków podniebiennych,

- ocena podstawowych badań krwi: leukocytozy, ASO, OB, CRP u chorych z jednym ze stanów chorobowych migdałków podniebiennych,

- ocena badania immunohistochemicznego tkanki migdałków podniebiennych usuniętych z powodu zapalenia i przerostu.

**Material badań** stanowiły 33 kobiety i 72 mężczyzn w wieku od 19 do 70 lat, którzy zostali zakwalifikowani do zabiegu tonsylektomii. Badaniu histopatologicznemu i immunohistochemicznemu poddano 105 migdałków podniebiennych usuniętych w ramach bloku operacyjnego z powodu zapalenia migdałków podniebiennych oraz przerostu migdałków podniebiennych w Klinice Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej z Klinicznym Oddziałem Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie. Jako diagnostyczne z patomorfologicznego punktu widzenia, zostały wybrane takie materiały tkankowe, które w ocenie mikroskopowej wykazywały typowy obraz struktury narządu, dodatkowo nie uszkodzonego podczas procedury chirurgicznej.

**Metodyka badań** obejmowała: badanie podmiotowe i przedmiotowe, ocenę parametrów krwi (ASO, OB., CRP), postępowanie chirurgiczne, ocenę histopatologiczną, ocenę immunohistochemiczną z użyciem przeciwciał (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 IL-10, IL-37 oraz CD25, CD40, CD69).

Przeprowadzono analizę statystyczną z wykorzystaniem programu GNU. Istotność wyznaczenia wartości średnich określono na podstawie testu t dla pojedynczej próby. Istotność różnic pomiędzy parametrami dwóch grup określono za pomocą testu t dla prób niezależnych. Istotność różnic pomiędzy parametrami więcej niż dwóch grup określono za pomocą analizy ANOVA z testem post-hoc LSD Fishera.

W analizie statystycznej wykorzystano również test Q Cochra z post-hoc analizą McNemara. Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Wojskowym Instytucie Medycznym w Warszawie nr 40/WIM/19 z dnia 16.10.2019 roku.

**W wynikach badań** Doktorant stwierdził, że istnieją znaczne rozbieżności w ocenie klinicznej i patomorfologicznej migdałków podniebiennych zakwalifikowanych do tonsylektomii, z tego też powodu metody te należy traktować jako uzupełniające się. Badanie podmiotowe i przedmiotowe w zależności od przyjętej klasyfikacji klinicznej lub histopatologicznej wykazuje zróżnicowanie rozkładu cech będących podstawą przydziału do danej grupy. Stwierdzono, że wartość diagnostyczna badań krwi obejmujących oznaczenie: ASO, OB, CRP, leukocytozy okazała się istotnym czynnikiem predykcyjnym chorób migdałków podniebiennych. W ocenie patomorfologicznej 75% badanych, którzy jednocześnie mieli



podwyższone OB (>4,73) i leukocytozę (>6,96) oraz obniżone ASO (<161,03) i CRP (<0,31) należało do grupy z zapaleniem migdałków podniebiennych.

Analiza wykazała, że badanie immunohistochemiczne wykazuje zróżnicowany profil badanych markerów w zależności od rozpoznanej choroby migdałków podniebiennych. Rejonem tkanki migdałka podniebiennego, dla którego stwierdzono najwięcej istotnych statystycznych różnic pomiędzy badanymi markerami jest *follicular center*. Odnotowano tam odpowiedzi dla CD-40 i IL-1. Najwyższe miano o wartości istotnej statystycznie wykazywała IL-1 równe 1,95 w grupie z przerostem migdałków podniebiennych. Najniższa wartość o istotności statystycznej występowała dla CD-40 w grupie z przerostem migdałków podniebiennych i wynosiła 0,42. Rejonami tkanki migdałka podniebiennego, które wykazywały po jednej wartości o istotności statystycznej dla badanych chemokin i limfokin były: *epithelial*, *follicular* oraz *interfollicular*. Dla *epithelial* odpowiedź wykazywała IL-10 równą 0,26 dla grupy z zapaleniem migdałków podniebiennych i 0,29 dla grupy z przerostem migdałków podniebiennych. CD-25 wykazywało odpowiedź dla rejonu *follicular* i *interfollicular* osiągając wartość równą 0,8 dla *follicular* w grupie z zapaleniem migdałków podniebiennych i 0,035 w grupie z przerostem migdałków podniebiennych.

Uzyskane wyniki badań świadczą o obecności swoistego profilu immunohistochemicznego chorób migdałków podniebiennych.

Rozdział **dyskusja** liczy 11 stron, w którym doktorant zestawia otrzymane wyniki własne z danymi literaturowymi, na podstawie prac krajowych oraz dostępnych doniesień zagranicznych.

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

1. Badania wykazały znaczne rozbieżności w ocenie klinicznej i patomorfologicznej migdałków podniebiennych zakwalifikowanych do tonsillektomii, z tego powodu metody te należy traktować jako uzupełniające się.
2. Badanie podmiotowe i przedmiotowe w zależności od przyjętej klasyfikacji klinicznej lub histopatologicznej wykazuje zróżnicowanie rozkładu cech będących podstawą przydziału do danej grupy.
3. Wartość diagnostyczna badań krwi obejmujących oznaczenie: ASO, OB, CRP, leukocytozę okazała się istotnym czynnikiem predykcyjnym chorób migdałków podniebiennych.
4. Przeprowadzone badania patomorfologiczne wykazały zróżnicowany profil ekspresji badanych markerów immunohistochemicznych w zależności od rozpoznanej choroby migdałków podniebiennych.

**Piśmiennictwo**, liczące 122 pozycje, obejmuje doniesienia obcojęzyczne w 98,4% i polskie w 1,6%. Piśmiennictwo zostało dobrane tematycznie, ale niektóre pozycje jak: 1, 18, 47, 48, 49, 50, 51, 70, 113, 117 mają już znaczenie historyczne i w przypadku publikowania pracy należy je pominąć.

Z obowiązku recenzenta podaję również inne uwagi:

- w przypadku publikowania należy usunąć w pracy drobne błędy literowe i interpunkcyjne oraz niektóre niefortunne zdania,
- w niektórych pozycjach piśmiennictwa brakuje tomu i stron.

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

Stwierdzam, że praca **lek. Przemysława Banta** stanowi samodzielny dorobek naukowy Autora, który wykazał 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. 187 ust. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.) i na tej podstawie pozwalam sobie wystąpić do Wysokiej Rady Naukowej Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie z wnioskiem o dopuszczenie **lek. Przemysława Banta** do dalszych etapów przewodu doktorskiego i **jednocześnie ze względu na duże walory naukowe oraz praktyczne zgłaszam wniosek o wyróżnienie pracy.**

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