13a 04.08.2016

Prof. dr hab. n. med. Jacek Gronwald
Zakład Genetyki i Patomorfologii
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego
w Szczecinie

Szczecin, 2016-07-08

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Adama Madeja pt.: „Ocena przydatności badania zaburzeń przekazywania informacji w komórkach nowotworowych u chorych z rakiem pęcherza moczowego"

Rak pęcherza moczowego jest najczęstszym nowotworem dróg moczowych. Każdego roku w Polsce rozpoznawany jest on u ok. 6500 pacjentów. Diagnoza ta wiąże się z niepewnym rokowaniem. Nowotwory te charakteryzują się wysokim odsetkiem nawrotów, a 5 letnie przeżycie dotyczy tylko około 60% chorych. Nowotwory te są różnorodne i nawet w obrębie jednej podgrupy wykazują duże różnice dotyczące rokowania. Dlatego dotychczasowe metody diagnozowania i klasyfikowania raków pęcherza należy uznać za niewystarczające i badania zmierzające na polepszenie tego stanu są pożądane. W ostatnim czasie zaobserwowano, że zaburzenia przekazywania sygnału związane z czynnikami wzrostu fibroblastów mogą wpływać na stopień złośliwości nowotworu i w ten sposób mogą być cennym markerem diagnostycznym i/lub predykcyjnym. W związku z powyższym tematykę badań ekspresji FGF/FGFR podjętą przez Doktoranta uważam za ważną i aktualną.

Oceniana rozprawa doktorska ma układ typowy: liczy 114 stron, zawiera 30 tabel, 21 rycin, zestawia 133 pozycje piśmiennictwa. Treść pracy została przedstawiona w 9 rozdziałach.

Cele pracy obejmowały:

Ocenę zależności pomiędzy występowaniem i poziomem ekspresji *FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGF1, FGF3, FGF4* w tkance nowotworowej a stopniem zróżnicowania i stadium zaawansowania raka pęcherza moczowego; wielkością guza; czasem leczenia chorych; ryzykiem nawrotu i progresji wyliczonym wg EORTC; wystąpieniem nawrotu i progresji podczas obserwacji chorych; ilością wypalonych papierosów; ilością lat pracy w warunkach narażenia zawodowego.

Badaniem objęto 72 chorych leczonych z powodu raka pęcherza moczowego metodą TURB w II Klinice Urologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w okresie od stycznia 2012

do czerwca 2013 roku. Od pacjentów pobrano próbki guza pęcherza moczowego oraz wyizolowano RNA. Analizy ekspresji poszczególnych receptorów/ligandów *FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGF1, FGF3, FGF4* na poziomie mRNA dokonano techniką Real Time PCR z użyciem komercyjnie dostępnych sond TaqMan. Chorych obserwowano po zabiegu przez okres do 2 do 30 miesięcy, średnio 16,8 miesiąca. Od pacjentów zebrano niezbędne informacje kliniczne. Względny poziom ekspresji badanych genów określono na podstawie zależności $1000*2^{-\Delta Ct}$.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

- Występowanie ekspresji *FGFR2, FGF1, FGF4* oraz wysoki poziom ekspresji *FGFR1, FGFR3, FGF3* związany jest z wyższym stopniem złośliwości raka pęcherza moczowego.
- Występowanie ekspresji *FGFR2, FGF1, FGF4* oraz wysoki poziom ekspresji *FGFR1, FGFR3, FGF3* związany jest z wyższym stadium zaawansowania raka pęcherza moczowego.
- Wysoki poziom ekspresji *FGFR3* związany jest z obecnością dużego (tj. powyżej 3 cm) guza pęcherza moczowego.
- Występowanie ekspresji oraz poziom ekspresji badanych genów nie ma związku z czasem leczenia chorych.
- Występowanie ekspresji *FGF4* oraz wysoki poziom ekspresji *FGFR1, FGF3* związany jest ze średnim ryzykiem nawrotu raka pęcherza moczowego wg EORTC. Występowanie ekspresji *FGF4* oraz wysoki poziom ekspresji związane *FGFR1, FGF3* związany jest z wysokim ryzykiem progresji raka pęcherza moczowego wg EORTC.
- Występowanie ekspresji oraz poziom ekspresji badanych genów nie ma związku z ilością wypalonych papierosów oraz ilością lat pracy w warunkach narażenia zawodowego.
- Badanie zaburzeń przekazywania informacji szlakiem FGF/FGFR u chorych z rakiem pęcherza moczowego może poprawić ocenę ryzyka nawrotu i progresji choroby oraz ułatwić wybór odpowiedniej metody leczenia i obserwowania chorych, a więc uzupełnić stosowane algorytmy postępowania z chorymi na raka pęcherza moczowego.

Lek. med.Adam Madej podjął się zadania oceny zależności pomiędzy występowaniem i poziomem ekspresji *FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGF1, FGF3, FGF4* w tkance raka pęcherza moczowego a stopniem zróżnicowania i stadium zaawansowania nowotworu; wielkością

guza; czasem leczenia chorych; ryzykiem nawrotu i progresji wyliczonym wg EORTC; wystąpieniem nawrotu i progresji podczas obserwacji chorych; ilością wypalonych papierosów; ilością lat pracy w warunkach narażenia zawodowego. Dane literaturowe dotyczące tej tematyki nie są jednoznaczne, dlatego wybór tematu badań uważam za ważny zarówno z powodów poznawczych jak również potencjalnego znaczenia praktycznego.

Do metodologii badań mam niewielkie uwagi merytoryczne. Zwiększenie grupy badanej umożliwiłoby uzyskanie odpowiedzi na większą liczbę postawionych pytań. Charakterystyka porównywanych grup powinna być dokładniejsza np. czas leczenia określony jest bardzo powierzchownie. Metodykę badań laboratoryjnych jak i typ analiz statystycznych dobrano prawidłowo i opisano w sposób przejrzysty. Wyniki zostały opisane, z drobnymi zastrzeżeniami, prawidłowo. Dyskusja jest krytyczna, uwzględnia aktualną literaturę, natomiast w zbyt dużym stopniu stanowi powtórzenie opisanych wyników. Wnioski sformułowano prawidłowo.

Wypełniając obowiązki recenzenta pragnę dodać kilka uwag, które mam nadzieje będą pomocne w przyszłych przedsięwzięciach badawczych Doktoranta:

1. Wyprowadzenie i uzasadnienie celu badań sformułowano w sposób lakoniczny na początku Wstępu. Wyprowadzenie takie powinno mieć formę bardziej rozbudowanego akapity na końcu Wstępu zaraz przed sformułowaniem celów badań.
2. Badania Doktoranta dotyczą zmian somatycznych w guzie, a więc niedziedzicznych. Często używane w pracy sformułowanie - „badanie genetyczne", powinno być zastąpione przez sformułowanie „badanie genomowe".
3. str. 15 – Autor cytuje, że ryzyko raka jest wyższe, u krewnych pierwszego stopnia i dotyczy głównie niepalących kobiet. Skoro jednym z głównych czynników ryzyka raka pęcherza moczowego jest palenie, jak Doktorant tłumaczy, że obciążony wywiad rodzinny asocjuje z ryzykiem tylko u kobiet, które nie paliły.
4. str. 15 – Pisząc o zespole HNPCC i uwzględniając podwyższone ryzyko raka pęcherza u nosicieli mutacji genu MSH2, należy konsekwentni ustosunkować się do poziomu ryzyka tego raka u nosicieli mutacji innych genów (MLH1, PMS1, PMS2 czy MSH6), które również są przyczyną zespołu HNPCC.
5. str. 34 – Opisując zespoły wrodzone wywołane mutacjami genów FGF/FGFR i nowotwory wywołane mutacjami tych genów, należy wyraźnie zaznaczyć, że te pierwsze są spowodowane mutacjami genów w komórkach germinalnych, a więc dotyczącymi wszystkich

komórek organizmu, a drugie są spowodowane mutacjami genów komórkach somatycznych, w tym wypadku dotyczącymi komórek guza nowotworowego.

6. str. 62-66 – w opisie wyników doktorant stwierdza, że zaobserwowano znamienne różnice pomiędzy grupami, natomiast nie precyzuje na czym te różnice polegają.

Wnioski końcowe.

Praca spełnia kryteria rozprawy doktorskiej. Stanowi dowód na samodzielne rozwiązanie problemu naukowego przez Doktoranta.

W związku z powyższym przedstawiam wniosek Radzie Wydziału Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. med. Adama Madeja do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Jacek Gronwald