

Kierownik Katedry Urologii

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Kierownik Oddziału Urologii Ogólnej i Onkologicznej

Specjalistycznego Szpitala im. Mikołaja Kopernika w Toruniu

Ocena

Rozprawy doktorskiej lek. Adama Madeja

pod tytułem: **„Ocena przydatności badania zaburzeń przekazywania informacji w komórkach nowotworowych u chorych z rakiem pęcherza moczowego”**

1. Uwagi ogólne i redakcyjne

Rozprawa doktorska lek. Adama Madeja pt. **„Ocena przydatności badania zaburzeń przekazywania informacji w komórkach nowotworowych u chorych z rakiem pęcherza moczowego”** napisana jest w sposób typowy dla pracy doświadczalnej. Rozprawa napisana jest poprawnie po polsku. Praca zawiera 114 stron wydruku komputerowego podzielonego na 6 rozdziałów, streszczenia w języku polskim i angielskim, spis piśmiennictwa, spis tabel, rycin oraz wykaz stosowanych skrótów. Rozplanowanie rozdziałów typowe dla pracy eksperymentalnej jest prawidłowe. Proporcje rozdziałów zakłóca jedynie nadmiernie w mojej ocenie rozbudowany wstęp, w którym opisano zagadnienia dotyczące diagnostyki raka pęcherza moczowego niekoniecznie ściśle związane z tematem pracy, przecież praca dotyczy rokowania u pacjentów z rakiem pęcherza. Uwaga ta ma charakter polemiczny i w niczym nie umniejsza wartości tej bardzo dobrej dysertacji. Rozprawa zawiera 21 rycin i 30 tabel. Spis piśmiennictwa obejmuje 133 pozycje w tym pozycje nowe (do 10 lat) stanowią około 76%. Przeglądając spis piśmiennictwa wnioskować można, iż jest to praca przesiąknięta świeżym spojrzeniem na zagadnienia urologii onkologicznej.

Jedyną niedogodnością jest fakt, iż w tekście rozprawy użyto odnośników numerycznych w nawiasach zamiast nazwisk autorów i roku. W tak dużej publikacji, jak ta rozprawa doktorska utrudnia to płynność czytania, gdyż trzeba przy każdym odnośniku wertować karty do rozdziału "Piśmiennictwo" i na powrót wracać do tekstu. Rozprawa doktorska jest formą zawierającą rozbudowane elementy pracy przeglądowej. W publikacji oryginalnej, która jest zwięzła nie ma to znaczenia, ale w obszernych pracach poglądowych możliwość identyfikacji autora i jego publikacji w tekście znacznie ułatwia czytanie. To jest techniczna uwaga, które nie ma żadnego znaczenia dla oceny pracy. Uważam jednak, że cytowanie piśmiennictwa w różnych rodzajach publikacji naukowych jest również ważnym elementem przygotowania naukowego manuskryptu a umiejętność ta z pewnością w przyszłości ułatwi Doktorantowi poruszanie się w materii publikowania w czasopismach naukowych.

2. Merytoryczna ocena pracy

Uzasadnienie podjęcia tematu Doktorant wyczerpująco przedstawił we *Wstępie*, opisując epidemiologię raka pęcherza, metody leczenia raka pęcherza, czynniki związane z ryzykiem nawrotu i progresji raka wraz z zasadami obserwacji chorych. Klarownie i poprawnie przedstawił różne ścieżki molekularne prowadzące do powstania raka pęcherza moczowego. Doktorant szczegółowo opisał szlak przekazywania sygnału FGF/FGFR oraz wszystkie jego elementy. Opisał zaburzenia występujące w tym szlaku w przypadku chorób nienowotworowych i nowotworowych z uwzględnieniem raka pęcherza moczowego. Sposób zaprezentowania tego zagadnienia świadczy, iż Doktorant świetnie orientuje się w materii dotyczącej nowotworzenia raka pęcherza moczowego. Należy z całą mocą podkreślić, iż wybór tematu pracy jest nie tylko trafny z punktu widzenia konieczności rozwiązywania istotnych zagadnień w urologii onkologicznej, ale świadczy o nowoczesnym spojrzeniu na zagadnienia dotyczące raka pęcherza moczowego. Właściwe

rozpoznanie biologicznego potencjału raka pęcherza moczowego decyduje o właściwym leczeniu a przez to o życiu chorych.

Doktorant w swojej pracy próbuje znaleźć odpowiedź na bardzo istotne pytania z zakresu urologii onkologicznej. Rozdział **Cele pracy** podnosi kwestie, czy poziom ekspresji genów kodujących receptory *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3* oraz ich ligandów *FGF1*, *FGF3*, *FGF4* w raku pęcherza zależy od jego stopnia zróżnicowania histopatologicznego (*grading*), stadium zaawansowania (*staging*), wielkości guza, czasu leczenia, wystąpienia nawrotu lub progresji, narażenia środowiskowego i socjalnego.

W rozdziale **Material i Metody** Doktorant opisał grupę pacjentów leczonych z powodu guza pęcherza moczowego metodą TURBT w okresie od stycznia 2012 do czerwca 2013 roku. Badaniem objęto 82 chorych (65 mężczyzn oraz 17 kobiet) w wieku od 50 do 87 lat. Po weryfikacji uzyskanych rozpoznań histopatologicznych dalszej analizie poddano dane 72 chorych. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę komisji etyki. Po pobraniu wycinka do badań genetycznych chorzy byli obserwowani do czerwca 2013 roku. Obserwacją objęto 65 chorych. Okres obserwacji wynosił od 2 do 30 miesięcy, średnio 16,8 miesiąca. 52 pacjentów poddano badaniu ankietowemu oceniającemu czynniki ryzyka i narażenie na czynniki środowiskowe indukujące raka pęcherza.

Następnie Doktorant opisuje sposób resekcji guza pęcherza moczowego a ponieważ jest to czynność standardowa w mojej opinii powinna ewentualnie być opisana w rozdziale **Wstęp**. W rozdziale **Material i Metody** wystarczyłoby opisać sam sposób pobierania i preparowania materiału tkankowego do badań molekularnych. Z drugiej strony brak mi informacji, czy Autor starał się rozwiązać zagadnienie heterogenności tkanki w obrębie guza, tj. różnic między częścią egzofityczną i częścią pobraną z dna zmiany, których znaczenie dla rozpoznania jest jak wiadomo różne. Jeżeli nie, to powinien przyjąć założenie, że każdy analizowany przypadek jest rakiem o

jednorodnej strukturze histologicznej a narzędziem do przeprowadzenia takiej oceny była ocena operatora podczas wykonywania zabiegu TURBT. Zdaję sobie sprawę, że taki model budzi wrażenie niedoskonałości, bo jak wiemy z doświadczenia, choćby stopień złośliwości raka potrafi być różny w różnych częściach guza, nie wspomnę o typach różnicowania, ale by była klarowność metod takie założenie trzeba by postawić.

Rozdział 3.4. jest zatytułowany “Metodologia badań genetycznych”. Termin “metodologia” jak sama nazwa wskazuje to dział nauki zajmujący się metodami a rozdział ten powinien nosić tytuł “Metody badań genetycznych”. W rozdziale tym Doktorant wyczerpująco opisuje metody izolacji RNA, analizy jego czystości, reakcje amplifikacji i ocenę ekspresji na poziomie RNA. Rozdział **Material i Metody** zamykają bardzo rzetelnie przedstawione statystyczne metody weryfikacji tez badawczych.

Rozdział **Wyniki** obszernie opisuje wszystkie aspekty, które Autor badań założył zbadać. Bardzo podoba mi się, iż Doktorant zdecydował się odrzucić z analizy dwóch pacjentów, jednego z rozpoznaniem CIS, drugiego z rakiem niskozróżnicowanym. Dzięki temu analiza materiału biologicznego będzie lepsza. Z drugiej strony trochę szkoda, iż analizowane grupy podzielone zostały według starego systemu oceny złośliwości raków, tj. G1-G3 a nie według nowego LG-HG. Nie umniejsza to wartości całej, jeszcze raz podkreślam, świetnej dysertacji, ale mogło by jej przysporzyć pewnych atutów. Po pierwsze podział raków LG-HG, jest obecnie mimo, zaleceń EAU do stosowania obu podziałów, bliższy pracy urologa klinicysty, przez to ta wartościowa publikacja mogłaby szybciej wpływać na rozwój dziedziny. Po drugie dzięki podziałowi “low-high” zmniejszyłaby się liczba podgrup a przez to wyniki byłyby jeszcze bardziej klarowne. Taki podział nadal jest możliwy podczas przygotowania tej publikacji do druku.

Doktorant przede wszystkim wykazał, iż raki o stopniu zróżnicowania G3 charakteryzują się bardzo wysokim stopniem ekspresji receptorów FGFR1, FGFR3 oraz białka FGF3, podobnie rzecz się ma

z inwazyjnymi rakami T1 i T2. Dzięki tej analizie jasno widać, iż taki T1 nie różni się potencjałem biologicznym od raków T2, zresztą oba stopnie zaawansowania wg nowej nomenklatury nazywane są inwazyjnymi. Powinniśmy o tym pamiętać, rozmawiając z pacjentami o radykalnym leczeniu raka pęcherza moczowego. W przypadku analizy uwzględniającej wielkość guza udowodniono jedynie wzrost ekspresji receptora FGFR3 dla raków powyżej 3cm. W analizie dotyczącej czasu leczenia i nawrotowości nie udowodniono żadnych zależności, ale analizując te dane myślę, że gdyby inaczej je pogrupować i analizować guzy pierwszorazowe w porównaniu do wszystkich nawrotowych, można by uzyskać ciekawe informacje. Najslabiej wypada analiza ekspresji badanych białek szklaku FGFR/FGF w oparciu o tabele ryzyka nawrotu i progresji EORTC, ale bynajmniej nie świadczy to o złym warsztacie Autora dysertacji. Wręcz przeciwnie, świadczy to, w mojej ocenie o słabej wartości samych tablic EORTC. Ich wieloczynnikowa analiza mająca służyć przepowiadaniu nawrotu i progresji wydaje się w świetle dzisiejszej wiedzy wysoce nieadekwatna i przesiąknięta sposobem myślenia z poprzedniego stulecia. Doktorant myśli zupełnie inaczej a przedstawione tutaj wyniki tylko ten fakt potwierdzają. Patrząc na różnice ekspresji białek FGF między grupami charakteryzującymi się niskim i średnim ryzykiem progresji, powątpiewam, czy analiza ryzyka progresji wg EORTC ma w ogóle sens biologiczny. Jeszcze raz chciałbym podkreślić wartość tej pracy, polegającą na łamaniu istniejących w onkologii stereotypów, często szkodliwych, bo przyczyniających się do nieprawidłowego leczenia pacjentów. W materii opisywanej przez Doktoranta i ilustrowanej świetnie przygotowanymi wynikami jest pewnie jeszcze dużo do zrobienia, ale najtrudniejsze są pierwsze kroki. Na stronie 67 Doktorant analizuje przebieg kliniczny obserwowanych pacjentów. Wydaje mi się, iż warto połączyć pacjentów z grupy 3 i 4, gdyż obie te grupy charakteryzują się progresją, w grupie 4 jest to istotna progresja kliniczna. Grupy 3 nie powinno się dzielić na podgrupy w zależności od progresji dotyczącej cechy T i G.

Bardzo podobają mi się wyniki przedstawione w pracy. Świadczą one, iż Doktorant świadomie

traktuje problem badawczy.

Dyskusja jest napisana poprawnie i szeroko opisuje poruszane w pracy problemy. Doktorant doskonale orientuje się w temacie i z biegłością przedstawia zawłości omawianego zagadnienia. Przytomnie zauważa, że możliwość prawidłowego zakwalifikowania pacjentów do grupy o wysokim ryzyku wznowy i progresji ma wpływ na dalsze decyzje lecznicze i przeżycie. Należy pogratulować Doktorantowi wysokiego stopnia świadomości i wiedzy dotyczącej biologii raka pęcherza moczowego. Doktorant doskonale zdaje sobie sprawę, iż decyzja o leczeniu radykalnym raka pęcherza podejmowana jest w Polsce za późno. Mogę to niestety tylko potwierdzić, w oparciu o dane np. z Czech, nie wspomnę i innych rozwiniętych krajach Unii. Doktorant zbyt swobodnie posługuje się terminem PUNLMP, raz nazywając go rakiem, raz stanem przednowotworowym (str. 86), o toż PUNLMP, to jest zdecydowanie zmiana nowotworowa i musi być tak traktowana. Bardzo podoba mi się, iż Doktorant raka w stopniu zaawansowania T1 zalicza do raków inwazyjnych, to jest jedna z ważniejszych informacji o znaczeniu praktycznym zawartych w tej pracy. Pogląd taki jest zresztą zbieżny z trendami w urologii światowej i mam nadzieję, że zmieni podejście do radykalnego leczenia raka pęcherza (str.87). Na stronie 88 Doktorant dyskutuje kwestie dotyczące kalkulatora EORTC, próbując wytłumaczyć zawodność tego narzędzia do swojej analizy. Ja swoje zdanie na temat kalkulatora EORTC wyraziłem omawiając skądinąd w moim przekonaniu dobre wyniki tej pracy. Dyskusję kończą aspekty zastosowania przedstawionego toku myślenia o raku pęcherza, które pokazują, iż praca ma mieć rzeczywisty aspekt praktyczny, co w mojej ocenie jest nie tylko cenne ale i odważne. Autor nie boi się konfrontacji swoich dociekań z rzeczywistością. W mojej ocenie, gdyby Autor zajął się oddzielną analizą części egzofitycznej i podstawy guza oraz nieznacznie przegrupował pacjentów mógłby osiągnąć jeszcze wyraźniejsze wyniki. To jest tylko uwaga polemiczna i być może godna podyskutowania.

Niemniej chciałbym z całą mocą podkreślić, że badanie to charakteryzuje się niezwykle świeżością

podejścia do tematu. Autor nie zraża się tym, iż inni badacze mają odmienne wyniki i opinie. W mojej ocenie Doktorant ma rację i wiele białek szlaku FGFR/FGF ulega nadekspresji wraz z rozwojem raka pęcherza moczowego.

Dyskusja jest ciekawym rozdziałem, który posiada bardzo dużą wartość edukacyjną. Wszystko to daje pełen obraz umiejętności pracy z materiałem naukowym i świadczy o dojrzałości Autora rozprawy.

Dyskusję kończy osiem wniosków szczegółowo odpowiadających założeniom przyjętym w celach pracy.

3. Ocena końcowa

Całą pracę oceniam jako interesującą, bardzo obszerną i wnikliwie analizującą wpływ molekularnych czynników wzrostu raka pęcherza na potencjalne decyzje dotyczące obserwacji i leczenia pacjentów z tą śmiertelną chorobą. Podkreślam zasługi naukowe Doktoranta dla rozwoju danej dyscypliny wiedzy i składam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. Adama Madeja do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na nowoczesne spojrzenie i próbę połączenia zagadnień molekularnych i klinicznych związane z obserwacją i leczeniem chorych na raka pęcherza zwracam się z uprzejmą prośbą o rozważenie przez Wysoką Radę Wydziału wyróżnienia tej dysertacji.



Prof. dr hab. med. Tomasz Drewa, FEBU