

Bydgoszcz, dn. 20.11. 2023 r.

Prof. dr hab. n. med. Alina Grzanka  
Kierownik Katedry Histologii i Embriologii,  
Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy,  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpł. dnia	24-11-2023
L. dz. RN-BiW/	2139

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Adriana Czekaja pt. „Ekspresja podoplaniny oraz jej wartość prognostyczna w raku urotelialnym pęcherza moczowego”.**

**promotor: prof. dr hab. n. med. Piotr Dziegiel**

Rak pęcherza moczowego stanowi istotny problem w naszym kraju. Pod względem umieralności na ten typ nowotworu Polska zajmuje obecnie drugie miejsce w Europie. Jest on jednym z najczęstszych nowotworów złośliwych występującym u ludzi między 50 a 70 rokiem życia, a głównym ryzykiem jego powstania jest palenie tytoniu. Ponad 90% wszystkich przypadków raka pęcherza moczowego stanowi rak urotelialny wywodzący się z baldaszkowatych komórek nabłonkowych. W zależności od naciekania błony mięśniowej ściany pęcherza moczowego może cechować się on nieinwazyjnym (non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC) albo inwazyjnym (muscle invasive bladder cancer; MIBC) typem wzrostu, co ma konsekwencje terapeutyczne. Przedstawiona do oceny praca doktorska lek. Adriana Czekaja pozostaje w nurcie aktualnych badań opierających się na poszukiwaniu potencjalnych markerów mających wartość diagnostyczną i prognostyczną w terapii nowotworów układu moczowego. Temat ocenianej dysertacji uważam za interesujący i posiadający duże znaczenie poznawcze ze względu na obraną tematykę, która ma wielowymiarowy charakter. Badania ostatnich lat wskazują na niezwykle istotną rolę tzw. mikrośrodowiska guza, które może istotnie wpływać na powstawanie choroby pierwotnej, a także promować pojawienie się przerzutów odległych. Ekspresja podoplaniny, jako, że jest to białko łączące filamenty aktynowe z białkami zakotwiczonymi w błonie komórkowej i dalej ze środowiskiem zewnętrznym, może być podatna na zmiany wynikające z interakcji komórka-podścielisko. Warty odnotowania jest fakt, że Doktorant podjął się oceny ekspresji podoplaniny, nie tylko w tkance nowotworowej i otaczającym ją marginesie tkanki zdrowej, ale także ocenił jej ekspresję w fibroblastach związanych z nowotworem. Doktorant

przeanalizował również ekspresję markerów proliferacji, angiogenezy i limfangiogenezy, co świadczy o zrozumieniu złożoności przebiegu procesu nowotworzenia.

Rozprawa doktorska lek. Adriana Czekaja obejmuje 79 stron maszynopisu i podzielona jest na 12 rozdziałów o właściwych proporcjach. Przygotowana jest starannie i zaprezentowana w sposób przejrzysty, zwięzły, a zarazem zrozumiały. Praca napisana jest poprawnym językiem, z użyciem właściwej terminologii, a sposób jej edycji jest prawidłowy. Zauważyłam tylko kilka drobnych błędów literowych i gramatycznych, które nie umniejszają istotnych osiągnięć pracy. Na początku rozprawy doktorskiej znajduje się wykaz używanych w niej skrótów, co znacznie ułatwia czytanie tekstu pracy i pozwala na szersze zrozumienie prezentowanego tekstu zwiększając jednocześnie jej czytelność.

Rozdział „Wstęp” jest obszerny i podzielony na szereg podrozdziałów, oparty jest on o dobrze dobrane piśmiennictwo, które uwzględnia najnowszą wiedzę w zakresie tematyki badawczej. Rozdział ten jest zrozumiały i daje dobre podstawy do lektury dalszych części rozprawy, wskazuje także na dużą wiedzę Doktoranta w zakresie obranej przez Niego tematyki badawczej. Cel pracy został sformułowany jasno i precyzyjnie, a jego treść znajduje swoje odzwierciedlenie w problemie badawczym i stanowi spójną całość z wnioskami. Dysertacja została dobrze zaplanowana, a dobrane przez Doktoranta techniki badawcze opisane w rozdziale „Materiał i metodyka badań” pozwoliły na zrealizowanie przez Niego celu badań. Materiałem były wycinki pobrane podczas zabiegów przezcewkowej elektroresekcji od 79 pacjentów, u których zdiagnozowano postać nieinwazyjną raka urotelialnego pęcherza moczowego (NMIBC). Ponadto wycinki pobrano od 40 pacjentów z diagnozą zaawansowanego raka urotelialnego pęcherza moczowego (MIBC). Grupę kontrolną stanowiło 10 pacjentów po zabiegach radykalnego usunięcia pęcherza moczowego, w tym przypadku wycinki pobierano z makroskopowo zdrowego fragmentu ściany pęcherza moczowego. Materiał pobierano od pacjentów w Oddziale Urologii i Urologii Onkologicznej Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu w latach 2017-2018. Materiał badawczy pobierano wyłącznie od chorych, od których uzyskano pisemną świadomą zgodę. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej, Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (KB 532/2018). Rozdział ten nie pozostawia żadnych przesłanek dotyczących pominięcia czy braku opisu w zakresie użytych do realizacji pracy doktorskiej procedur i materiału, a przedstawiony w nim warsztat badawczy stanowił podstawę do otrzymania wyników, które jasno i konkretnie Doktorant omówił w rozdziale „Wyniki”. Rozdział „Materiał i metodyka badań”, kończy się opisem analizy statystycznej

wyników, opierającej się na zastosowaniu zróżnicowanych testów, przyporządkowanych metodom doświadczalnym.

Wyniki przeprowadzonych badań Doktorant przedstawił na 18 stronach i udokumentował je 23 rycinami, a także dwiema tabelami. Wszystkie przedstawione ryciny są przemyślane i pozwalają na przedstawienie wyników w bardzo przejrzystej formie, co znacznie ułatwiło zapoznanie się z efektami przeprowadzonych badań. W rozdziale tym Doktorant przedstawił wyniki reakcji immunohistochemicznych wykonanych w celu oceny lokalizacji i poziomu ekspresji podoplaniny Ki-67, CD31 oraz CD34, a także ich korelacje z danymi kliniczno-patologicznymi w nieinwazyjnych rakach urotelialnych pęcherza moczowego (NMIBC). Wskazują one na brak istotnych statystycznie różnic w poziomie ekspresji podoplaniny w komórkach nowotworowych oraz w fibroblastach związanych z nowotworem (CAF's) względem grupy kontrolnej. Natomiast ekspresja podoplaniny w komórkach nowotworowych była istotnie wyższa w guzach MIBC, w porównaniu do NMIBC. Wykazano także słabą dodatnią korelację pomiędzy ekspresją podoplaniny w komórkach raka, a gęstością mikronaczyń ocenianą za pomocą CD31 oraz CD34. Doktorant, zauważył również trend dłuższego przeżycia wolnego, od wznowy procesu nowotworowego przy niższej gęstości mikronaczyń oraz słabą korelację podoplaniny w fibroblastach związanych z nowotworem (CAF's), a gęstością naczyń (MVD). Natomiast nie wykazał istotnego związku poziomu ekspresji podoplaniny w CAF's i komórkach nowotworowych z ryzykiem nawrotu NMIBC. Poza tym zaobserwowano w badaniach trend wskazujący, że CAF's z niską ekspresją podoplaniny i komórki nowotworowe z jej wysoką ekspresją były związane z dłuższym czasem przeżycia pacjentów wolnym od wznowy. Nie wykazano jednak istotności statystycznej. Opis i formę prezentacji wyników oceniam bardzo wysoko. Na uwagę zasługują piękne mikrofotografie przedstawiające barwienie immunohistochemiczne.

Otrzymane wyniki zostały omówione przez Doktoranta wraz z odniesieniem do danych literaturowych w rozdziale poświęconym dyskusji, który został napisany rzeczowo i merytorycznie. Lek. Adrian Czekaj odniósł się do dostępnych w piśmiennictwie publikacji innych autorów, wykazując dużą kompetencję oraz zrozumienie przytaczanych tekstów. Doktorant w sposób krytyczny dokonał analizy i porównania wyników własnych z wynikami autorów pozostałych prac. Przygotowując treść rozdziału „Dyskusja”, Autor pracy udowodnił, że potrafi ustosunkować się do własnych wyników badań w kontekście dobrze dobranego piśmiennictwa. O sukcesie przeprowadzonych w ramach niniejszej dysertacji badań świadczą cztery wnioski kończące rozprawę doktorską, które mają charakter logiczny i

odznaczają się wartością poznawczą. Praca posiada przejrzystą bibliografię, w której pogrupowano zróżnicowane źródła tekstowe. Wykorzystano w tym celu zarówno krajowe, jak i anglojęzyczne pozycje piśmiennictwa naukowego. Można stwierdzić, że przedstawione w pracy pozycje literaturowe, Autor wykorzystuje w sposób właściwy i uporządkowany, uwzględniając je w swoich rozważaniach. Wszystko jest czytelne i przemyślane. Streszczenie przygotowane w języku polskim jak i angielskim zawierające syntetyczny opis założeń niniejszej pracy badawczej Doktorant zamieścił na końcu pracy doktorskiej. Ostatni rozdział zatytułowany „Załączniki” zawiera opinię komisji bioetycznej nr *KB-532/2018*, egzemplarz wzoru *Informacja dla osób uczestniczących w badaniu naukowym*, trzy oświadczenia: *Zgoda na przyjęcie warunków ubezpieczenia*, *Zgoda na udział w badaniach*, *Zgoda na przetwarzanie danych*, oraz decyzja wydana przez *Centrum Wspierania Nauki przy UM we Wrocławiu* w sprawie przyznania dotacji na badania.

Podsumowując, stwierdzam, że uzyskane w ramach dysertacji wyniki są spójne i istotne dla podjętej problematyki badawczej. Praca stanowi całościowe i oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i jest dowodem rozległej i ugruntowanej wiedzy Autora oraz potwierdzeniem predyspozycji i umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Doktorant udowodnił, że potrafi samodzielnie sformułować i rozwiązać postawiony problem naukowy oraz odpowiednio dobrać techniki badawcze, które posłużyły do uzyskania wyników na dobrym poziomie, a także przeprowadzić ich dyskusję z wynikami innych grup badawczych. Prezentowana rozprawa doktorska w pełni spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Adriana Czekaja do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Z uwagi na jakość przeprowadzonych badań oraz oryginalną próbę wyjaśnienia udziału podścieliska w przebiegu NMIBC i MBIC wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Prof. dr hab. n. med. Alina Grzanka

