



**SZPITAL UNIWERSYTECKI NR 1**  
**IM. DR. ANTONIEGO JURASZA**  
**W BYDGOSZCZY**

Klinika Urologii i Andrologii

ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz

tel. 52/ 585 45 00, fax 52/ 585 40 45, email: katurol@em.umk.pl



**E B U**

European Board of Urology

Dr hab. n. med. Kajetan Juszcak, prof. UMK

Bydgoszcz, 08.12.2021

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Aleksandra Kiełbika pt.  
„Wpływ krótkich impulsów elektrycznych na komórki raka gruczołu krokowego”

Promotorzy: Dr hab. n. med. Bartosz Małkiewicz,

Dr hab. inż. Julita Kulbacka, prof. UMW

Rak gruczołu krokowego (RGK) jest drugim najczęściej diagnozowanym nowotworem u mężczyzn. Większość pacjentów z RGK wymaga leczenia radykalnego (prostatektomia radykalna). Niemniej biorąc pod uwagę biologię RGK, obraz kliniczny pacjenta z RGK (wiek, choroby współistniejące, itd.) oraz preferencję pacjenta w wybranych przypadkach wybieramy metody nieoperacyjne (radioterapia radykalna, aktywny nadzór, itd.). Nadal poszukuje się nowych technik małoinwazyjnych w leczeniu RGK. U pacjentów z RGK o niskim lub pośrednim ryzyku można rozważyć terapie fokalne, niemniej metody te nadal są uznawane za eksperymentalne. Obiecujące zagadnienie dotyczące zmian przepuszczalności błon komórkowych pod wpływem impulsów elektrycznych może znaleźć zastosowanie w rozwoju nowych technik fokalnych u leczeniu RGK.

Doktorant podjął się oceny efektów biologicznych krótkich impulsów elektrycznych na komórki RGK przy użyciu linii komórkowych (ludzkie komórki RGK DU 145 oraz LNCaP).

Przekazana do recenzji rozprawa doktorska liczy 99 stron maszynopisu, którego podstawą są 3 artykuły, w tym 1 praca przeglądowa (praca nr 1) oraz 2 artykuły oryginalne (praca nr 2 i 3). We wszystkich opracowaniach Doktorant jest pierwszym autorem:

1. Kiełbik, A., Szlasa, W., Saczko, J., & Kulbacka, J. (2020). Electroporation-Based Treatments in Urology. *Cancers*, 12(8),2208.  
(IF – 6,639; 140 pkt. MNiSzW)
2. Kiełbik, A., Szlasa, W., Michel, O., Szewczyk, A., Tarek, M., Saczko, J., & Kulbacka, J. (2020). In Vitro Study of Calcium Microsecond Electroporation of Prostate Adenocarcinoma Cells. *Molecules*, 25(22), 5406.  
(IF – 4,411; 100 pkt. MNiSzW)



3. Kiełbik, A., Szlaska, W., Novickij, V., Szewczyk, A., Maciejewska, M., Saczko, J., & Kulbacka, J. (2021). Effects of high-frequency nanosecond pulses on prostate cancer cells. *Scientific Reports*, 11(1), 1-10.  
(IF – 4,379; 140 pkt. MNiSzW)

Łączna punktacja przedstawionego cyklu prac wynosi: IF – 15,429 i 380 punktów MNiSzW.

Dysertacja została przygotowana bardzo starannie od strony edytorskiej. Spis treści rozprawy doktorskiej sporządzony jest w sposób przejrzysty i pozwala czytelnikowi w prosty sposób zorientować się w poszczególnych częściach rozprawy.

We wstępie rozprawy doktorskiej Doktorant umiejętnie zaznajamia czytelnika z podjętą tematyką. Przedstawia miejsce terapii fokalnych w leczeniu RGK. Szczegółowo omawia zjawisko elektroporacji odwracalnej i nieodwracalnej. Ponadto opisuje znaczenie jonów wapnia w zjawisku elektroporacji. Założenia i cele pracy są sformułowane poprawnie.

Doktorant starannie zaplanował i wykonał bardzo pracochłonna doświadczalną część pracy badawczej z użyciem linii komórkowych. W ocenie efektów biologicznych krótkich impulsów elektrycznych zastosował cystometrię przepływową, mikroskopię konfokalną oraz test luminescencyjny. Dodatkowo posługiwał się metodami pozwalającymi na pomiar przeżywalności i mobilności komórek oraz aktywność kaspaz. Ponadto Doktorant stosował zaawansowane techniki pozwalające na wizualizację elektroporacji.

Przedstawione artykuły oryginalne przygotowane zostały w oparciu o typowy układ dla prac doświadczalnych, z zachowaniem wymogów poszczególnych rad redakcyjnych. Zgodnie z przyjętą zasadą, w wstępie poszczególnych prac Doktorant szczegółowo zaznajamia czytelnika z tematem opracowania, a część tę kończy jasno sprecyzowany cel pracy. Opis metodyki badań nie budzi zastrzeżeń. Każdy artykuł zawiera dokładny i przejrzysty opis przeprowadzonego doświadczenia i uzyskanych wyników. Wszystkie prace kończą się szczegółowo dyskusją, w których otrzymane wyniki badań są umiejętnie zestawiane z wynikami innych badaczy. Charakter prowadzonej dyskusji w przedstawionych pracach wskazuje na dojrzałość naukową Doktoranta.

Pierwszy Artykuł (praca nr 1) przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący technologii wykorzystujących zjawisko elektroporacji w urologii. Doktorant szczegółowo opisuje zjawisko elektroporacji. Ponadto przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący





nieodwracalnej elektroporacji w nowotworach układu moczowo-płciowego (tj. rak nerki, rak gruczołu krokowego i raku urotelialnym) oraz jej wpływ modulujący na układ immunologiczny. Doktorant zagadnienie elektrochemioterapii będącej połączeniem dwóch metod leczenia: elektroporacji i chemioterapii (aplikacji cytostatyków) w raku pęcherza moczowego i raku gruczołu krokowego. Dodatkowo omawia zastosowanie elektroporacji w terapii genowej. Przedstawiony artykuł zawiera przegląd literatury obejmujący 191 pozycji piśmiennictwa.

W kolejnym artykule (praca nr 2) przedstawiono wyniki badania przedklinicznego, przeprowadzonego przez Doktoranta, którego celem było zbadanie wpływu elektroporacji (z lub bez udziału jonów wapnia) na komórki RGK. Wyniki przeprowadzonego eksperymentu wskazują, że elektroporacja wapniowa znacząco zmniejsza żywotność komórek RGK poprzez promowanie apoptozy. Ponadto zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego rozbija cytoszkielet aktynowy i wpływa na mobilność komórek RGK.

Celem kolejnego eksperymentu przeprowadzonego przez Doktoranta, było określenie wpływu impulsów elektrycznych o wysokiej częstotliwości na cytoszkielet i ruchliwość komórek RGK. Wyniki badania przedstawiono w pracy nr 3. Wyniki badania wykazały, m.in. że nanosekundowe impulsu elektryczne o częstotliwości 1 MHz wykazują wyraźnie zwiększoną cytotoksyczność w porównaniu z impulsami o niższych częstotliwościach. MHz-owa kompresja impulsów ujawnia także inną dynamikę napływu jonów wapnia po permeabilizacji.

W redagowaniu wszystkich prac oraz przygotowanej rozprawy doktorskiej wykorzystano aktualną i bogatą literaturę.

W rozprawie doktorskiej Doktorant w sposób czytelny podsumowuje uzyskane wyniki przeprowadzonych badań elektroporacji mikrosekundowej i nanosekundowej na liniach komórkowych RGK.

W wnioskach Doktorant wskazuje na wysoką skuteczność cytotoksyczną krótkich impulsów elektrycznych na komórki RGK, co może znaleźć zastosowanie w terapii fokalnej tego nowotworu. Ponadto zwraca uwagę, że permeabilizacja komórek RGK zależy od częstotliwości i natężenia impulsu elektrycznego. Dodatkowo Doktorant we wnioskach podkreśla potencjalne działanie krótkich impulsów elektrycznych polegające na zmniejszeniu mobilności komórek nowotworowych oraz wpływie na cytoszkielet tych komórek.

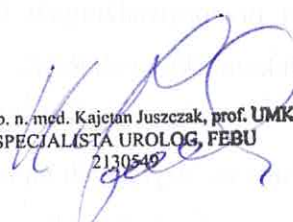


Przedstawiona od oceny rozprawa doktorska nie zawiera poważniejszych błędów. Napisana jest poprawnie, ale z pozycji recenzenta chciałbym zauważyć że Autor nie ustrzegł się kilku, drobnych, błędów edytorskich (np. strona 6). Ponadto zwraca uwagę niepotrzebna tendencja do wprowadzania szeregu nazw dla tego samego narządu (gruczoł krokowy, stercz, prostata). Używana nazwa powinna być spójna z nazwą zawartą w tytule rozprawy, tj. gruczoł krokowy. Podkreślam błędy te nie umniejszają wysokiej wartości pracy.

### **Wniosek końcowy:**

Po dokładnym zapoznaniu się pracą doktorską lek. Aleksandra Kielbika uważam że Autor pracy posiadał wymaganą znajomość warsztatu metodycznego, potrafi ten warsztat samodzielnie rozbudowywać i odpowiednio wykorzystywać w pracy eksperymentatorskiej, a otrzymane wyniki logicznie interpretować i łączyć z dotychczasową wiedzą. Przedstawiona dysertacja dobrze dokumentuje w moim przekonaniu kilka ważnych spostrzeżeń dotyczących wpływu stymulacji elektrycznej na komórki raka gruczołu krokowego. Drobne uwagi Recenzenta nie umniejszają wysokiej wartości dysertacji.

**Mając powyższe na uwadze pragnę stwierdzić, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pana lek. Aleksandra Kielbika pt. „Wpływ krótkich impulsów elektrycznych na komórki raka gruczołu krokowego” w pełni odpowiada wymogom stawianym tego rodzaju opracowaniom. Oceniana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. Art. 187 ust.1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z powyższym wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycze Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Aleksandra Kielbika do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

  
Dr hab. n. med. Kajetan Juszcak, prof. UMK  
SPECJALISTA UROLOG, FEBU  
21305497