

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DISCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	0.8 -02- 2022
L. dz. RN-BM/	151/2022

Gdańsk 28.01.2022r.

Prof. dr hab. med. Michał Studniarek
Kierownik Zakładu Radiologii
Wydziału Lekarskiego
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Uniwersytet Medyczny
we Wrocławiu



RPW/1295/2022 P
Data:2022-02-07

Recenzja pracy doktorskiej

lek. med. Aleksandra Kiełbika pt.: "Wpływ krótkich impulsów elektrycznych na komórki raka gruczołu krokowego"

Pracę wykonano pod kierunkiem dwóch promotorów:

1. Dr hab. n. med. Bartosza Małkiewicza z Kliniki Urologii Małoinwazyjnej i Robotycznej Uniwersyteckiego Centrum Urologii Uniwersytetu Medycznego Piastów Śląskich we Wrocławiu
2. Dr hab. inż. Julity Kulbackiej, prof. UMW w Katedrze i Zakładzie Biologii Molekularnej i Komórkowej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego Piastów Śląskich we Wrocławiu

Ocenę wykonałem na wniosek Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Medyczne prof. dr hab. Agnieszki Hałoń przesłany mi dnia 18.11.2021r. zgodnie z uchwałą nr 299/X/2021 Rady Dyscypliny Nauki Medyczne UMW z dnia 21.10.2021r

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska ma postać zszywki trzech publikacji, zgodnej z wymogami i zasadami akademickimi publikowania i prezentowania tego typu dysertacji.

W jej skład wchodzi następujące publikacje:

1. Kiełbik A., Szlasa W., Saczko J. i Kulbacka J. (2020) „Electroporation-based treatments in urology”
Cancers, 12(8), 2208 (IF 6.639; 140 punktów MNiSW)
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 punktów MNiSW)

3. Kiełbik A., Szlasa 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 punktów MNiSW)

Lekarz medycyny Aleksander Stanisław Kiełbik jest lekarzem stażystą w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym im. Jana Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu.

Ostatnie 15 lat w nauce to okres intensywnego zgłębiania sposobów wykrywania i oceny rozległości raka stercza, choroby która jest rozpoznawana coraz częściej. W starzejących się społeczeństwach niektóre nowotwory stają się wręcz powszechne. Rak prostaty w niektórych badaniach jest przedstawiany jako stan stwierdzany u ponad połowy populacji męskiej w wieku ponad 64 lat. W Polsce wg danych demograficznych z 2010 roku żyje obecnie ponad 2 miliony mężczyzn w wieku ponad 64 lata. A więc można założyć, że ok. milion z nich ma raka stercza.

Wg Narodowego Instytutu Onkologii w raporcie *Nowotwory Złośliwe w Polsce w 2018 roku* odnotowano 16 414 zachorowań na raka stercza (I miejsce, przed rakiem płuc) i 5574 zgony (II miejsce, po raku płuc).

Spośród znanych nowotworów złośliwych rak prostaty ma jedną z niższych śmiertelności w stosunku do liczby zachorowań (do 34%).

Problemem współczesnej urologii jest wykrzywiecie tzw. istotnych nowotworów stercza, tzn. tych potencjalnie śmiertelnych.

Klasyczny schemat zakłada pomiar stężenia PSA we krwi i badanie palcem przez odbytnicę (DRE). W świecie obie metody są powszechnie krytykowane z powodu ich niskiej czułości i niedoskonałej oceny stopnia zaawansowania raka, co przesądza o słabych wynikach skutecznego leczenia. Nie wnikając w doskonale znane urologom ograniczenia tego schematu zwracam uwagę na wagę problemu.

Niemniej ponad 2/3 chorych z rozpoznaniem indolentnym rakiem prostaty oczekuje odpowiedniego potraktowania onkologicznego. Nacisk chorych oczekujących możliwie radykalnego postępowania onkologicznego spowodował nawet zmianę klinicznego staging'u poprzez wprowadzenie w 2014 roku skali Grup Grade włączającej nowotwory od 2 do 6 stopnia w skali Gleason'a do stopnia GG1 w nowej skali pięciostopniowej.

Klasyczne radykalne leczenie raka stercza jest często obarczone skutkami ubocznymi, znacznie obniżającymi jakość życia, ale chorzy niechętnie akceptują

obserwację i powtarzanie wieloskrawkowych biopsji. Możliwość zastosowania nieradykalnych lokalnych metod cytoredukcyjnych wydaje się oczekiwaną alternatywą dla tych pacjentów. Trwają badania nad możliwością zastosowania metod lokalnej ablacji termicznej opartych na wykorzystaniu prądu wysokiej częstotliwości (RFA), mikrofal radiowych (MWA), zamrażania (krioterapia), fal mechanicznych (HIFU) oraz innych miejscowych metod. Wszystkie te metody nie osiągnęły jeszcze statusu sposobów leczenia zalecanych przez FDA czy inne organizacje i nadal nie ma wartościowych dowodów naukowych na ich rzeczywistą skuteczność. Równocześnie rośnie liczba doniesień o powikłaniach związanych z ich zastosowaniem. Większość doniesień dotyczy możliwości powikłań zapalnych i zaburzeń oddawania moczu. Metody termiczne nie respektują struktur takich jak cewka moczowa i pęczki naczyniowo-nerwowe, a poablacyjne martwicze tkanki w obszarze gruczołu krokowego są podatnym miejscem rozwoju infekcji bakteryjnych.

Poszukiwane są metody miejscowego leczenia pozbawione tych wad. Najnowszym kierunkiem badań jest zastosowanie krótkich impulsów elektrycznych zmieniających organizację bioelektryczną błon komórkowych. W zależności od zastosowanego napięcia i czasu trwania impulsu dochodzi do zmiany czynności struktur błonowych w postaci odwracalnego lub nieodwracalnego wzrostu ich przepuszczalności i uszkodzenia komórek. Co ważne komórki w prawidłowych, nienowotworowych tkankach przejawiają zdolności samonaprawcze co prowadzi do zachowania czynności pęczków naczyniowo-nerwowych i cewki moczowej.

Doktorant zaplanował i przeprowadził badania wpływu krótkich impulsów elektrycznych na komórki raka gruczołu krokowego. Zakres tematyczny dysertacji wpisuje się w najbardziej aktualną tematykę światowych badań.

Prace połączono tekstem omówienia z załączonymi streszczeniami w języku polskim i angielskim. W omówieniu scharakteryzowano w znakomitym skrócie problematykę epidemiologii raka stercza, z podkreśleniem faktu nazbyt częstego kwalifikowania chorych z indolentnymi postaciami raka stercza do leczenia radykalnego z pełnymi konsekwencjami takich decyzji.

Celem pierwszej, poglądowej pracy „Electroporation-based treatments in urology” opublikowanej w *Cancers* (2020), 12(8), 2208 (IF 6.639; 140 punktów MNiSW) jest pełnowartościowa analiza danych w dostępnych publikacjach

anglojęzycznych dotyczących tego zagadnienia. Analiza jest tak kompletna i wielopłaszczyznowa, że budzi moje zdumienie i podziw. Autorzy analizują nie tylko dostępne publikacje dotyczące nieodwracalnej elektroporacji, ale również możliwości wykorzystania elektroporacji odwracalnej w terapii zmian nowotworowych. Zwłaszcza możliwość zwiększenia efektywności dokomórkowego transportu chemioterapeutyków. Według mojego skromnego doświadczenia ta właściwość elektroporacji będzie kluczem do skutecznej terapii. Przepływ prądu przez heterogenne tkanki jest z pewnością niejednorodny, dlatego nie można uzyskać homogennej ablacji w polach o teoretycznie odpowiednio wysokim napięciu, W efekcie zabieg prowadzi do cytoredukcji, bez możliwości uzyskania pełnej ablacji. W miejscach o niższym napięciu powinien wystąpić jednakże efekt elektroporacji odwracalnej, być może wystarczający dla zwiększenia skuteczności chemioterapii. Warunkiem byłoby wykonanie IRE w środowisku o możliwie wysokim stężeniu chemioterapeutyku, np. cisplatyny, czy gemcytabiny.

Celem drugiej pracy „In vitro study of Calcium microsecond electroporation of prostate adenocarcinoma cells” opublikowanej w *Molecules* (2020), 25(22), 5406 (IF 4.411; 100 punktów MNiSW) była analiza wpływu krótkich impulsów elektrycznych na komórki raka stercza w środowisku jonów wapnia. Zastosowano bogaty zestaw metod do oceny efektywności elektroporacji, analizy śmierci komórek, analizy mobilności komórkowej, zmian białek w cytoszkielecie i efektywności transportu jonów wapnia. Autorze dowodzą, że mimo iż sama obecność jonów wapnia nie wpływa na przeżywalność komórek raka, to wykonanie serii krótkich impulsów elektrycznych w tych warunkach silniej indukuje apoptozę, obniża mobilność komórkową i rozбивa włókna aktynowe. Komórki poddane elektroporacji wykazywały zmiany typowe dla programowanej śmierci komórkowej.

Celem trzeciej pracy „Effects of high-frequency nanosecond pulses on prostate cancer cells” opublikowanej w *Scientific Reports* (2021), 11(1), 1-10 (IF 4.379; 140 punktów MNiSW) była ocena wpływu serii elektrycznych impulsów nanosekundowych na komórki raka.

Autorzy wykazali, że tego typu metodyka również prowadzi do zwiększenia odsetka zniszczonych komórek. W niektórych modyfikacjach śmiertelność komórek osiągała 100%. Obniża się nie tylko przeżywalność komórek, ale wykazano, że

obserwowane zmiany dotyczą głównie cytoszkieletu komórek i zmniejszenia mobilności komórek, choć nie wykazano wzajemnej korelacji tych efektów. Maksymalny oczekiwany efekt cytotoksyczny występował, gdy stosowano nanosekundowe impulsy w seriach o częstotliwości 1MHz, dowodząc wyjątkowej efektywności tej techniki.

Wydaje się również, że impulsy nanosekundowe, nie powodujące reakcji mięśni, można będzie stosować również w znieczuleniu miejscowym.

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na pewne niejasności i niedociągnięcia, które znalazłam w tekście pracy. Dotyczą one tekstu polskiego. Proponuję, aby Autor chętniej używał polskich odpowiedników zamiast spolszczonych angielskich terminów:

- terapia fokalna, lepiej ogniskowa
- permeabilizacja – przepuszczalność
- elektroporowane komórki
- natężenie pola elektrycznego – napięcie, różnica potencjałów
- zastosowanie na nowotworze prostaty – w raku stercza, prostaty
- model dwuwarstwy lipidowej – dwuwarstwowy model fosfolipidowy
- zwizualizowane – zobrazowane
- ewaluacja – ocena

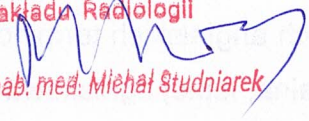
Wnioski 3 i 5 nie są uprawnione. Autor prezentuje swoje opinie i oczekiwania, które nie wynikają z przeprowadzonych badań.

Są to oczywiście niedociągnięcia nie mające cech obniżających wartość pracy, a więc nie mogą mieć wpływu na moją końcową ocenę. Przeciwnie, przedstawiona mi do recenzji praca potwierdza, że Doktorant posiada systematyczną wiedzę z zakresu tematyki pracy doktorskiej, potrafi analizować swoje wyniki, zgodnie z aktualnym stanem wiedzy.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa lek. med. Aleksandra Kiełbika pt.: **"Wpływ krótkich impulsów elektrycznych na komórki raka gruczołu krokowego"** 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 zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Aleksandra Kiełbika do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie wnoszę o wyróżnienie rozprawy – zgodnie z kryteriami obowiązującymi w GUMed, wartość przedstawionych prac wg punktacji MNiSW wynosi 380 (IF- 15,429) wypełnia je z nadwyżką. Serdecznie gratuluję tak wartościowego Doktoranta.

Michał Studniarek

KIEROWNIK
Zakładu Radiologii

prof. dr hab. med. Michał Studniarek