

Recepcje kontynuacja
Kuroseli o...
Prodzlekan
Wydział Lekarski
ds. Nauki

Dr hab. n. med. Mikołaj Przydacz, FEBU prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska Kraków, 2023-04-10

Oddział Kliniczny Urologii i Urologii Onkologicznej
Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Ocena

Rozprawy doktorskiej mgr **Kamila Szeliskiego**

pod tytułem:

„Diagnostic potential of extracellular vesicles in prostate cancer”

1. Uwagi ogólne i redakcyjne

Rozprawa doktorska mgr Kamila Szeliskiego pt. „Diagnostic potential of extracellular vesicles in prostate cancer” napisana jest jako praca doświadczalno-kliniczna w formie monografii. Manuskrypt zawiera 119 stron wydruku komputerowego podzielonego na czternaście części (w to wliczone są załączniki). Rozprawa zawiera 29 rycin oraz 4 tabele. Spis piśmiennictwa obejmuje 224 pozycje powiązane z tematem rozprawy.

Rozprawa napisana jest poprawnie w języku angielskim, w sposób zwięzły i przejrzysty, z rozległą znajomością przedstawianego zagadnienia. Zwraca również dbałość o szczegóły edytorskie.

Doktorant szczegółowo i dokładnie udokumentował również zgody lokalnej komisji bioetycznej, które zostały udzielone Pani Profesor Marcie Pokryweczyńskiej, tj. Promotorowi Doktoranta.

2. Merytoryczna ocena pracy

We wstępie, który jest klarowny i jasny, Doktorant prawidłowo omawia aktualne zalecenia dotyczące postępowania diagnostycznego i terapeutycznego u chorych z rakiem gruczołu krokowego. Co istotne, informacje zawarte w początkowej części dysertacji są zgodne z najaktualniejszymi zleceniami Europejskiego Towarzystwa Urologicznego. W mojej opinii brakuje jednak podkreślenia znaczenia badania fizykalnego, tj. badania *per rectum* (ang. digital rectal examination), które jest standardem postępowania oraz zawsze punktem wyjścia dalszej diagnostyki raka gruczołu krokowego. Doktorant

powinien przynajmniej wspomnieć o jego istotnym znaczeniu w codziennej praktyce klinicznej lekarzy urologów, a nie tylko wymienić w kontekście porównań z biomarkerami raka stercza, które aktualnie nie są już rutynowo zalecane i szeroko stosowane.

W dalszej części obszernego wstępu, Doktorant definiuje pęcherzyki zewnątrzkomórkowe, ich właściwości, znaczenie oraz metody izolacji i oczyszczania, płynnie przechodząc do celu swojej dysertacji.

Doktorant w swojej rozprawie próbuje zmierzyć się z zagadnieniami dotyczącymi potencjału diagnostycznego jaki mogą nieść pęcherzyki zewnątrzkomórkowe w raku gruczołu krokowego. Cel pracy opisany jest dwoma zagadnieniami 1) Porównanie różnych metod oczyszczania małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych pozyskanych z surowicy krwi i moczu chorych z rakiem gruczołu krokowego oraz 2) Analiza markerów powierzchniowych średniej wielkości pęcherzyków zewnątrzkomórkowych i zawartego w nich miRNA, które zostały pozyskane z surowicy krwi chorych z rakiem gruczołu krokowego, jako potencjalnych czynników mających znaczenie w stratyfikacji pacjentów kwalifikowanych do aktywnego nadzoru (ang. active surveillance).

W rozdziale „Materials and methods” Doktorant wyjaśnia, że do badania włączono pacjentów z rakiem gruczołu krokowego kwalifikowanych do zabiegu radykalnej prostatektomii w Oddziale Klinicznym Urologii Ogólnej i Onkologicznej Szpitala Uniwersyteckiego w Bydgoszczy (n=39). Z tego, próbki od 15 pacjentów wykorzystano do porównania różnych metod izolacji (cel I), a próbki od 24 pacjentów do analizy średniej wielkości pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (cel II). W tym miejscu uwagę recenzenta może zwrócić mała ilość chorych włączonych do badania, tym bardziej, że w dysertacji w dziale dotyczącym obliczeń statystycznych brakuje określenia szacunkowej liczebności badanej grupy (ang. sample size estimation). Jest to o tyle istotne, że przedstawione badanie jest badaniem prospektywnym.

Wynik badania histopatologicznego gruczołu krokowego usuniętego podczas radykalnej prostatektomii posłużył Doktorantowi do podziału włączonych do badania pacjentów na dwie grupy, tj. tych którzy mogliby być kandydatami do aktywnego nadzoru (Gleason score 6 oraz 7 (3+4)) oraz

tych którzy nimi nie mogliby być (Gleason score 7 (4+3), 8 oraz 9). Jest to podział zgodny z aktualnymi wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Urologicznego dla pacjentów mogących być kandydatami do aktywnego nadzoru.

Proces przygotowania materiału pobranego od pacjentów do analiz (tj., surowica i mocz) oraz wykorzystane metody analityczne są szczegółowo i dokładnie opisane przez Doktorant. Wszystkie procedury są prawidłowo wyjaśnione. Ponadto, cała metodologia prezentowana jest przez dobrze opisane ryciny.

W rozdziale „Results” Doktorant prezentuje wyniki swojej pracy, które są konsekwentnie i rzeczowo opisane, a ogólne wrażenie jest bardzo dobre. Obecne są również ryciny, a niektóre dane liczbowe przedstawione zostały w czytelnych tabelkach. Autor uznał zarówno surowicę krwi, jak i mocz pacjentów z rakiem gruczołu krokowego za możliwe źródło pozyskiwania małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych przy wykorzystaniu odpowiednich metod oczyszczania. Doktorant wykazał różnice pomiędzy badanymi metodami oczyszczania pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, tj. precypitacją, chromatografią wykluczania rozmiaru oraz separacją immunomagnetyczną, które w różny sposób wpływają na wielkość małych pęcherzyków, zanieczyszczenie białkami i obecność tetraspanin. Chromatografia wykluczania rozmiaru uzyskała najlepsze wyniki w przypadku zanieczyszczenia białkowego, zarówno z surowicy krwi, jak i moczu w porównaniu z innymi metodami. Natomiast precypitacja nie okazała się optymalną metodą oczyszczania małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych z surowicy krwi, ponieważ znacznie zwiększała rozmiar uzyskiwanych małych pęcherzyków oraz skutkowała najwyższym stężeniem zanieczyszczeń białkowych w porównaniu z innymi metodami. Doktorant celnie zwrócił uwagę, że przy doborze metody oczyszczania małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych należy kierować się wybranym źródłem pęcherzyków oraz dalszymi planowanymi analizami.

Omawiając drugi cel dysertacji, Doktorant pokazał, że osocze krwi obwodowej pacjentów z rakiem prostaty może być źródłem średnich pęcherzyków zewnątrzkomórkowych PSMA+ wydzielanych przez komórki gruczołu krokowego. Autor stwierdza, że cytometryczna analiza nanoFlow markerów

powierzchniowych średnich pęcherzyków zewnątrzkomórkowych w osoczu krwi obwodowej i profilowanie miRNA może zapewnić nową, potencjalnie lepszą, nieinwazyjną alternatywę dla pomiarów PSA w celu stratyfikacji ryzyka progresji raka prostaty podczas aktywnego nadzoru. W tym miejscu zdecydowałbym się na ostrożniejszy wniosek, ponieważ liczne porównania przedstawione przez Doktoranta pomiędzy pacjentami będącymi kandydatami do aktywnego nadzoru i nie będącymi takimi kandydatami były nieistotne statystycznie (str. 48, paragraf 2 i 3). Ponadto, zgodnie z aktualnymi wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Urologicznego, kwalifikacja pacjenta z rakiem gruczołu krokowego do aktywnego nadzoru nie odbywa się tylko na podstawie stopnia złośliwości histopatologicznej Gleasona, ale również na podstawie stężenia PSA i stopnia zaawansowania klinicznego (cT w skali TNM, ocenione podczas badania *per rectum*), a w ostatnich latach coraz częściej również w oparciu o rezonans magnetyczny gruczołu krokowego z oceną wg skali PIRADS. Monitorowanie pacjentów w aktywnym nadzorze również wykorzystuje nie tylko oznaczanie stężenia PSA, ale także powtarzane biopsje gruczołu krokowego czy rezonans magnetyczny. W dysertacji Doktorant zakwalifikował chorych jako kandydatów do aktywnego nadzoru wyłącznie na podstawie stopnia złośliwości histopatologicznej Gleasona, który jest tylko jednym z parametrów wykorzystywanych w codziennej praktyce klinicznej. Wśród analizowanych przez Doktoranta potencjalnych markerów stosunek PSMA+/PSMA+CD9+ oraz zwiększona zawartość miR-99a-5p, miR-125b-5p, miR-145-5p i miR365a-3p dały najbardziej obiecujące wyniki, które jak celnie zauważa Autor wymagają potwierdzenia na większej grupie pacjentów.

3. Ocena końcowa

Całą pracę oceniam jako interesującą. Wybór tematu rozprawy doktorskiej jest bardzo aktualny, ze względu na duże zapotrzebowanie kliniczne na inne metody diagnozowania i typowania raka gruczołu krokowego. Doktorant rozumie, że narzędzia służące diagnozowaniu nowotworów urologicznych nie są skończone, ale nadal się rozwijają i chce w tym rozwoju uczestniczyć. Podkreślam zasługi naukowe Doktoranta dla rozwoju danej dyscypliny wiedzy i potwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz. 1688).

Wnioskuje do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. n. med. Mikołaj Przydacz, FEBU

Dr hab. n. med. Mikołaj Przydacz, FEBU
Specjalista urolog
3125227