

25.05.2021 r. Warszawa

dr hab. n. med. Roman Sosnowski, Prof. NIO-PIB
Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy
ul. W.K. Roentgena 5, 02-781 Warszawa

Recenzja pracy doktorskiej Pana Piotra Kutwina „**Ocena przydatności miRNA jako biomarkera raka pęcherza moczowego**” przedstawionej mi do oceny przez Wysoką Radę Naukową Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Rak pęcherza moczowego stanowi istotny problem we współczesnej uro-onkologii. Według ostatnich danych epidemiologicznych jest dziesiątym pod względem zachorowań i trzynastym pod względem śmiertelności nowotworem na świecie. W 2018 roku zdiagnozowano na świecie ponad pół miliona przypadków i zarejestrowano około 200 tys. zgonów. Wciąż wyniki leczenia nie są zadowalające pomimo rozwoju metod diagnostycznych czy operacyjnych oraz wdrażania nowoczesnego leczenia systemowego. Należy także zwrócić uwagę na istotny negatywny wpływ postępowania terapeutycznego na jakość życia chorego i to niezależnie jak okaleczające takie leczenie zostało wdrożone. Poszukiwanie odpowiedzi na pytania jak powinno wyglądać skuteczna diagnostyka, jak właściwie dopasować do danego chorego leczenie, jak zapewnić pacjentowi najlepszy komfort w czasie i po leczeniu, jak utrzymać na dobrym poziomie jego jakość życia, stanowią wyzwania współczesnej uro-onkologii.

Przekazana mi do recenzji praca została wykonana pod kierunkiem Pana Dr hab. n. med. Zbigniewa Jabłonowskiego, Profesora UM oraz Pani Dr hab. n. med. Edyty, będącej Promotorem Pomocniczym.

Ośrodek urologiczny w którym pracuje Pan Dr hab. Zbigniew Jabłonowski jest uznanym miejscem na polskiej mapie urologicznej z istotnym wkładem w jej rozwój. Tematy związane z uro-onkologią były zawsze obszarem szczególnych zainteresowań pracowników tego ośrodka.

Na rozprawę doktorską składa się monotematyczny cykl publikacji opublikowany w międzynarodowych czasopismach naukowych.

3p, microRNA-99a-5p, microRNA 199a-5p, microRNA 106b-3p, 130b-3, microRNA145-3p) z czynnikami klinicznymi i patologicznymi nowotworu pęcherza moczowego. Kolejna praca jest przeglądem publikacji oceniających przydatność microRNA ocenianych w moczu w wykrywaniu nowotworów pęcherza moczowego.

Publikacja **“Clinical value of microRNA-19a-3p and microRNA-99a-5p in bladder cancer”** opublikowana w Archives of Medical Science ocenia poziom ekspresji microRNA-19a i microRNA-99a w pęcherzu moczowym porównując tkankę nowotworową i zdrową. Analiza wykazała obecność statystycznie znamiennych różnic w poziomie ekspresji microRNA-19a dla wszystkich badanych podgrupach, czyli w rakach pęcherza moczowego typu low- i high-grade, jak również w rakach nienaciekających i naciekających warstwę mięśniową właściwą pęcherza moczowego. Ponadto w grupie pacjentów z wysokim stopniem anaplazji grupa TaT1 charakteryzowała się istotnie niskimi wartościami miR-19a-3p w porównaniu z pacjentami o tej samej złośliwości i większym zaawansowaniu (T2). Podobnie w grupie pacjentów z TaT1 o niskim stopniu anaplazji wartości microR-19a-3p są istotnie wyższe niż u pacjentów w tym samym stopniu zaawansowania i wyższym stopniu złośliwości. Ponadto microR-19a-3p pomaga różnicować pacjentów zarówno pod względem stopnia zaawansowania, jak i stopnia anaplazji komórkowej. Interesującym wnioskiem był fakt, iż oznaczenie relatywnego poziomu ekspresji microRNA-19a i microRNA-99a wiązało się z możliwością przewidzenia wznowy procesu nowotworowego u pacjentów chorujących na raka pęcherza moczowego.

Publikacja zawiera wyczerpująco przeprowadzoną dyskusję przedstawiającą wyniki współczesnych publikacji dotyczących microRNA w raku pęcherza w odwołaniu do własnych danych. We wnioskach autorzy stwierdzają, że miR-19a-3p w badanej grupie było przydatne do różnicowania między chorobą o niskim i wysokim stopniu złośliwości w stadiach raka pęcherza nienaciekającego warstwę mięśniową właściwą pęcherza. Ponadto microR-19a-3p i microR-99a-5p były w stanie wyróżnić nawrót nowotworu lub jego brak wśród pacjentów z niską anaplazją komórkową.

Publikacja **“Expression profile of microRNAs (106b-3p, 130b-3, 145-3p, 199a-5p) in urine and serum samples from patients with the diagnosis of bladder cancer”** opublikowana w Polskim Merkuriuszu Lekarskim w 2021 roku ocenia poziomy ekspresji miRNA u pacjentów z rakiem pęcherza moczowego zarówno w moczu jak i we krwi. Analiza wykazała wzmożoną ekspresję dla microRNA 199a-5p ocenianego w moczu ($p=0,0262$) oraz dla microRNA 106b-3p ocenianych zarówno w supernatancie moczu jak i surowicy krwi (odpowiednio $p=0,0262$ i $p=0,0149$). Poziom ekspresji microRNA 145-3p był istotnie statystycznie obniżony w moczu ($p=0,0111$) w porównaniu z grupą kontrolną, podczas gdy w surowicy krwi nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami ($p=0,0903$). Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na brak referencji w zdaniu „We have chosen miRNA 106b-3p, 130b-3, 145-3p and 199a-5p as their expression have been proven to be altered in patients diagnosed with cancers” co jest istotne w aspekcie danej pracy naukowej. Jednocześnie recenzent zwraca się z zapytaniem, dlaczego właśnie te cząsteczki zostały wybrane do analizy ekspresji?

Autor we wstępie przedstawia epidemiologię dotyczącą raka pęcherza moczowego zwracając uwagę na istotne koszty jakie ponosi służba zdrowia w zakresie diagnostyki i leczenia tego

schorzenia. Następnie doktorant określa metody diagnostyczne z uwzględnieniem ich niedoskonałości przedstawiając jednocześnie rolę microRNA. Zakres omawianych prac świadczy o dobrym przygotowaniu merytorycznym autora co także zauważono w dyskusji. Zamieszczone czytelne grafiki umożliwiają łatwą interpretację wyników. W dyskusji autor przedstawiając własne wyniki umiejętnie odniósł je do współczesnych danych z literatury. Słusznie zauważono w ograniczeniach pracy, że mała grupa badana, bez podziału na stopnie kliniczne czy anaplazji komórkowej wskazuje na ostrożną interpretację wyników. Wnioski z przeprowadzonego badania umożliwiają wykorzystanie wybranych microRNA ocenianych w moczu do diagnostyki raka pęcherza.

Przedstawione w cyklu publikacji dwie prace badawcze posiadają wspólny wątek jakim jest wykorzystanie microRNA w diagnostyce raka pęcherza moczowego. Są starannie pod względem naukowym przeprowadzone, wyniki w sposób czytelny i zrozumiały odzwierciedlają proces badawczy a dyskusje świadczą o pogłębionej wiedzy doktoranta. Całość publikacji niejako spina praca przeglądowa poświęcona temu zagadnieniu. Autor omawia 17 publikacji oceniających rolę microRNA ocenianym w moczu w odniesieniu do raka pęcherza moczowego. Prawidłowo przygotowany wybór prac zgodnie z obowiązującym standardem świadczy o umiejętności doktoranta opracowywaniem przeglądów systematycznych literatury. Dyskusja przedstawiona w tej pracy jest przykładem umiejętnie prowadzonej analizy dostępnych, współczesnych, publikacji naukowych w danym temacie. Zwraca uwagę dokładne przedstawienie najnowszych danych dotyczących diagnostyki raka pęcherza i wśród nich roli microRNA co zostało w przejrzysty sposób zobrazowane odpowiednimi tabelami. W przyszłości recenzent zachęca doktoranta do opracowania przeglądu systematycznego dotyczącego ekspresji microRNA w tkance guza pęcherza co przyczyniłoby się do szerszego przedstawienia tego zagadnienie społeczności urologicznej.

W podsumowaniu wszystkie trzy prace przedstawione w zbiorze publikacji posiadają wspólny mianownik jakim jest badanie ekspresji microRNA w raku pęcherza moczowego.

Recenzent zwraca się z zapytaniem o wytłumaczenie jednych z wniosków obu prac, iż brak jest korelacji ocenianych microRNA z czynnikami socjodemograficznymi jak i paleniem tytoniu. Istnieje udokumentowany, silny negatywny związek substancji smolistych tworzących się podczas palenia papierosów m.in. z rakiem pęcherza moczowego. Czy istnieje powiązanie zewnętrznych czynników z ich wpływem na zmiany ekspresji microRNA?

Ponadto proszę o skomentowanie wyników ocenianych microRNA w zakresie stopnia zaawansowania histologicznego i klinicznego w oparciu o badane grupy. Czy guz o zwiększonym tzw. potencjale złośliwości (np. HighGrade) jest skorelowany z zwiększoną ekspresją microRNA? Jeśli tak to od czego zależy, iż dane microRNA wykazuje daną zależność?

Ciekawym wątkiem przyszłych prac jest wykorzystanie microRNA w ocenie odpowiedzi na leczenie np. TURT. Wciąż poszukiwane są markery nie tylko w aspekcie pierwotnej diagnostyki, oceny rokowniczej, ale także w obszarze oceny skuteczności danej terapii. Recenzent zachęca doktoranta do dalszych prac w tym temacie.

Ponadto interesującym wątkiem dalszych prac jest wybór najważniejszych microRNA celem przygotowania tzw. *multi* narzędzia diagnostycznego. Recenzent chętnie zapozna się z opinią doktoranta w tym temacie – czy w oparciu o współczesną wiedzę i wyniki własnych prac badawczych można wskazać na zasadność stosowania określonych microRNA?

Wymienione niewielkie uwagi nie zmieniają mojej pozytywnej oceny recenzowanej rozprawy doktorskiej. Praca doktorska Pan Piotra Kutwina jest bardzo wartościowa i stanie się najprawdopodobniej istotnym elementem ważnej dyskusji dotyczącej diagnostyki raka pęcherza moczowego. Chciałbym serdecznie pogratulować wytrwałości i pracowitości w aspekcie pracy naukowej w nowym, dynamicznie rozwijającym się obszarze medycznym jakim jest biologia molekularna. Tym bardziej jest to cenne, iż badania naukowe był niejako dzielone w czasie z kliniczną, chirurgiczną pracą doktoranta.

Przedstawiona mi rozprawa 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. zn.) i z całym przekonaniem wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego we Łodzi do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

dr hab. n. med. Roman Sosnowski


Prof. Inst. Dr hab. Roman Sosnowski
Urolog, Chirurg
4473763

Dzianat Wyzdział Lekarski UM w Krakowie
wpłynęła dnia 07.08.2021
podpis 