

Bydgoszcz 26.05.2025

Dr hab. n med. Łukasz Rzepiński, prof. PBŚ

Klinika Neurologiczna

10 Wojskowy Szpital Kliniczny w Bydgoszczy

ul. Powstańców Warszawy 5, 85-681 Bydgoszcz

Tel. 261 416 146, email: lukasz.rzepinski@10wsk.mil.pl

Kuranta *recenzja*
prof. dr hab. Tomasz Grzybowski
Z-ca Przewodniczącej
Rady Dyscypliny Nauki Medyczne
prof. dr hab. Tomasz Grzybowski

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarza Marcina Kuranta pt.:

„Ocena stężeń metaloproteinaz macierzy i ich inhibitorów oraz $\alpha 2$ makroglobuliny u pacjentów ze zdiagnozowanym powierzchownym nowotworem pęcherza moczowego”

Promotor pracy prof. dr hab. n. med. Michał Wiciński

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zapadalności i chorobowości nowotworów pęcherza moczowego. Rokowanie odnośnie 5-letniego przeżycia związane jest z histopatologicznymi wykładnikami stopnia złośliwości guza, miejscowym zaawansowaniem procesu nowotworowego oraz obecnością regionalnych / odległych zmian przerzutowych. W literaturze przedmiotu zauważalne są rozbieżności w odniesieniu do rokowania u pacjentów z powierzchownym rakiem urotelialnym pęcherza moczowego w oparciu jedynie o wyniki badań histopatologicznych guza.

Wysoce zasadne jest zatem poszukiwanie nowych, potencjalnych biomarkerów powierzchownego raka urotelialnego pęcherza moczowego w łatwo dostępnych do powtarzalnej oceny płynach ustrojowych. Z tego powodu z wielkim zainteresowaniem przeczytałem rozprawę doktorską lek. Marcina Kuranta podejmującą tematykę oceny stężenia potencjalnych biomarkerów profilowania diagnostycznego w surowicy krwi i w moczu pacjentów z potwierdzonym rozpoznaniem powierzchownego raka urotelialnego pęcherza moczowego. Wśród uwzględnionych do analizy biomarkerów Doktorant ocenił stężenie w

surowicy krwi i w moczu wybranych metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-1, MMP-9, MMP-14, MMP-15) oraz ich inhibitorów (TIMPs 1-4), jak również α 2-makroglobuliny.

Przedstawiona do recenzji praca zawiera 93 stronic, poszczególne rozdziały i podrozdziały zostały wyodrębnione w spisie treści i szczegółowo opisane w tekście. W dysertacji zawarto łącznie 3 tabele i 41 rycin. Schemat pracy właściwej pozostaje w zgodności z ogólnie przyjętym układem rozprawy doktorskiej i składa się ze wstępu przedstawiającego czynniki ryzyka, epidemiologię oraz objawy kliniczne nowotworów pęcherza moczowego, który dodatkowo wzbogacony został rycinami pochodzącymi z materiału własnego Autora. W dalszej kolejności Doktorant przedstawia czynniki rokownicze i wskaźniki przeżycia dla pacjentów z rozpoznaniem rakiem pęcherza moczowego, aktualnie obowiązujące standardy diagnostyczne nowotworów pęcherza moczowego, jak również wyzwania związane z poszukiwaniem nowych metod diagnostycznych / biomarkerów tej jednostki chorobowej na poziomie molekularnym. W kolejnym rozdziale Doktorant szczegółowo omawia charakterystykę i znaczenie oznaczanych w pracy metaloproteinaz macierzy, jak również ich inhibitorów w procesie kancerogenezy oraz metastazy. W sposób wyczerpujący opisane zostały również potencjalne modyfikowalne czynniki związane ze stylem życia i stosowaną dietą, które mają wpływ na aktywność metaloproteinaz macierzy i ich inhibitorów. Osobny podrozdział poświęcony został charakterystyce i znaczeniu stężenia α 2-makroglobuliny w nowotworach pęcherza moczowego. Zawarte w rozdziałach wprowadzających informacje stanowią gruntowne podstawy do analizy dalszej części pracy i zostały poparte właściwie dobraną literaturą przedmiotu.

W dalszej części pracy Autor określa cele badania:

1. Ocena stężenia w surowicy krwi i w moczu pacjentów z powierzchownym rakiem urotelialnym pęcherza moczowego potencjalnych biomarkerów profilowania diagnostycznego: MMP-1, MMP-9, MMP-14, MMP-15 i ich inhibitorów (TIMPs 1-4) oraz α 2-makroglobuliny.
2. Analiza korelacji badanych parametrów oraz wskazanie preferowanego materiału do badań diagnostycznych.
3. Uzyskanie wieloczynnikowego modelu biomarkerów, stanowiącego uzupełnienie standardowego panelu diagnostycznego u chorych ze zdiagnozowanym nowotworem pęcherza moczowego.

W kolejnym rozdziale opisującym materiał i metody Doktorant przedstawia grupę badaną oraz zastosowane w pracy metody laboratoryjne. Po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy UMK, Collegium Medicum w Bydgoszczy Doktorant przeprowadził kwalifikację pacjentów do badania, a następnie pobieranie i zabezpieczanie materiału biologicznego (surowicy i moczu) w Oddziale Urologii i Onkologii Urologicznej Szpitala Specjalistycznego im. J.K. Łukowicza w Chojnicach w latach 2021-2022. Do badania zakwalifikowano pacjentów ze zdiagnozowanym powierzchownym nowotworem pęcherza moczowego (pTa/pT1 HG/LG), u których dokonano dwukrotnego pobrania materiału do analizy – krwi w objętości około 10 ml i moczu maksymalnie 100 ml (łącznie 80 próbek), przed i w okresie trzech miesięcy po elektroresekcji guza. Grupę kontrolną stanowili zdrowi ochotnicy bez zdiagnozowanej choroby nowotworowej. Grupa badana i kontrolna nie różniły się istotnie statystycznie pod względem wieku, masy ciała i wskaźnika BMI. Krew pobierano w pozycji siedzącej, za pomocą zestawu próżniowego, przez wykwalifikowany personel medyczny. Mocz dostarczany był przez pacjentów w standardowych sterylnych pojemnikach o objętości 100 ml. Oznaczenia laboratoryjne przeprowadzono w Katedrze Farmakologii i Terapii Collegium Medicum UMK. W obu grupach oznaczono metodą ELISA stężenia: MMP-1, MMP-9, MMP14 i MMP-15 oraz inhibitorów, tj. TIMPs (1-4), a także stężenie $\alpha 2$ makroglobuliny. W opinii recenzenta w rozdziale tym brakuje jednak wyraźnie wypunktowanych kryteriów włączenia i wykluczenia z udziału w badaniu.

Uzyskane wyniki badań poddane zostały analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 13.3. Zgodność dystrybucji z rozkładem normalnym wyników badania krwi i moczu przed i po resekcji guza oszacowano za pomocą test Shapiro-Wilka. Znamienność statystyczną oceniono przy pomocy testu nieparametrycznego - kolejności par Wilcoxon. Ze względu na rozkład uzyskanych wyników zastosowano test korelacji rang Spearmana oraz test Pearsona, dla korelacji o charakterze liniowym. W opinii recenzenta metody statystyczne dobrane zostały prawidłowo.

Kolejny rozdział pracy przedstawia wyniki przeprowadzonych badań i wzbogacony został o liczne ryciny. Zarówno opracowanie, jak i przedstawienie wyników nie budzi zastrzeżeń poza brakiem odsyłaczy dla poszczególnych rycin w tekście. Następnie Doktorant podsumował uzyskane wyniki w postaci 14 punktów, co znacząco zwiększa przejrzystość pracy. W rozdziale tym Autor jednak nie we wszystkich punktach opisał szczegółowo pomiędzy jakimi grupami uczestników badania stwierdza się istotne statystycznie różnice stężeń oznaczanych biomarkerów. Ponadto w tekście używane są zamiennie określenia stężenie i poziom w

odniesieniu do analizowanych biomarkerów, jednak bardziej właściwe byłoby używanie terminu stężenie.

Następnie uzyskane wyniki badania poddane zostały dyskusji. Rozdział ten liczy 11 stron tekstu i zawiera 5 rycin. W części tej Doktorant właściwie interpretuje wyniki badań własnych, racjonalnie odnosząc je do obserwacji innych autorów. Doktorant słusznie zauważa, że potrzebne są dalsze badania określające stężenia analizowanych biomarkerów także w materiale biopsyjnym pobranym bezpośrednio z guza i podścieliska, jak również wydłużenie czasu obserwacji po usunięciu nowotworu. Dodatkowo wskazuje, że ocena zależności zmian analizowanych stężeń biomarkerów poszerzona o ich oznaczenia w zakresie masy guza i marginesu zdrowej tkanki, w korelacji z wynikami badań stężeń w surowicy i w moczu może stanowić klinicznie przydatne narzędzie uzupełniające rekomendowane obecnie metody diagnozowania i leczenia chorych z nowotworami pęcherza moczowego.

W kolejnym rozdziale Autor przedstawia sześć wniosków, które korespondują z uzyskanymi wynikami pracy i stanowią odpowiedź na postawione cele badania. Doktorant podsumowuje, że ocena stężeń MMPs i TIMPs w surowicy pacjentów z nowotworem urotelialnym pęcherza moczowego, nie spełnia cech potencjalnego narzędzia wspomagającego diagnostykę pacjentów, a stężenie $\alpha 2$ -makroglobuliny we krwi i w moczu nie odzwierciedla zmian zachodzących w obrębie guza pęcherza moczowego i jego środowiska. W opinii Doktoranta ocenę zmian stężeń panelu metaloproteinaz i ich inhibitorów w moczu należy rozważyć jako uzupełnienie standardowej diagnostyki w rakach urotelialnych pęcherza moczowego. Dodatkowo podkreśla, że ocena stężenia tylko jednego typu endopeptydazy lub TIMP ma znikomą wartość kliniczną, a wielkość guza nie ma wpływu na poziom poszczególnych MMPs i TIMPs w moczu. Ostatni wniosek badania wskazuje, że analiza korelacji stężeń w moczu MMPs i TIMPs zarówno przed jak i po elektroresekcji guza może stanowić pomocne narzędzie diagnostyki biochemicznej.

Poza wymienionymi powyżej rozdziałami dysertacja zawiera streszczenia pracy w języku polskim i angielskim, wykaz zastosowanych skrótów, wykaz rycin i tabel. W pracy zamieszczono również Uchwałę Komisji Bioetycznej przy UMK w Toruniu, Collegium Medycznym w Bydgoszczy (KB 9/2021 z dnia 19.01.2021) potwierdzającą pozytywne zaopiniowanie wniosku na przeprowadzenie badania. Piśmiennictwo zawarte w pracy liczy 112 starannie dobranych pozycji prac autorów polskich i zagranicznych. Piśmiennictwo zostało uporządkowane w kolejności alfabetycznej, a blisko 40% z cytowanych prac zostało opublikowanych w ciągu ostatnich 5 lat (2020-2025). Niestety nie wszystkie pozycje

piśmiennictwa są od siebie wyraźnie oddzielone, co utrudnia analizę cytowanej literatury przedmiotu.

Praca została napisana poprawną polszczyzną, w sposób zwięzły i przejrzysty. Występujące w tekście błędy edytorskie nie wpływają na wartość i ogólny odbiór pracy. Reasumując uważam, że rozprawa doktorska lekarza Marcina Kuranta pt. „Ocena stężeń metaloproteinaz macierzy i ich inhibitorów oraz $\alpha 2$ makroglobuliny u pacjentów ze zdiagnozowanym powierzchownym nowotworem pęcherza moczowego” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Doktorant wykazał się wiedzą teoretyczną w zakresie nauk medycznych oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Tym samym potwierdzam, że przedstawiona do recenzji dysertacja spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim w myśl Art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.).

Mając na uwadze powyższe wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie lekarza Marcina Kuranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. n med. Łukasz Rzepiński, prof. PBS