

Warszawa, 17.05.2023

Prof. dr hab. n. med.

Joanna Raszeja-Wyszomirska

Klinika Hepatologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

ul. Banacha 1 a, 02-097 Warszawa

tel./fax. 22 599 16 62/63

Ocena rozprawy doktorskiej p. dr *Piotra Wiśniewskiego* pt.

**„WPLYW DŁUGOTRWALEJ TERAPII IMMUNOSUPRESYJNEJ
NA KOMÓRKI NABŁONKA JELIT U SZCZURA”**

Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu,

w Dyscyplinie nauki medyczne

wykonanej pod kierunkiem naukowym Promotora

dr hab. n. med. Karoliny Kędzierskiej Kapuzy

i promotora pomocniczego: ***dr n. med. Kamili Szumilas***

w Klinice Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie,

w Wydziale Lekarskim

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki o zdrowiu, stanowi 61 stron tekstu w twardej oprawie, z czego 42 strony to praca właściwa, na pozostałych znajdują się: strona tytułowa, spis treści, objaśnienie skrótów stosowanych w pracy, a także streszczenie w języku polskim. Manuskrypt ma układ typowy i składa się ze wstępu, opisu celu pracy, szczegółowej sekcji dotyczącej materiału i stosowanych metod, szerokiego opracowania wyników, dyskusji i wniosków oraz piśmiennictwa, a także spisu rycin i tabel.

Tematem rozprawy doktorskiej lek. med. Piotr Wiśniewskiego jest ocena wpływu leków immunosupresyjnych na integralność bariery nabłonkowej jelita, zwłaszcza cienkiego. Badanie przeprowadzono na archiwalnym materiale zwierzęcym, będącym w posiadaniu jednostki macierzystej Autora, po uzyskaniu stosownych zgód.

Dostępność wielu leków immunosupresyjnych pozwoliła na rozwój transplantologii klinicznej oraz dobieranie optymalnych schematów leczenia u indywidualnego chorego. Leczenie immunosupresyjne stosuje się od momentu przeszczepiania do ustania czynności narządu przeszczepionego, co zwykle jest tożsame z końcem życia biorcy. Polega ono na równoczesnym podawaniu kilku leków immunosupresyjnych, działających na różnych etapach odpowiedzi immunologicznej i zależy od rodzaju przeszczepianego narządu, stopnia ryzyka immunologicznego, obecności chorób współistniejących i zaburzeń metabolicznych oraz jakości przeszczepianego graftu. We wczesnym okresie po transplantacji, gdy ryzyko wystąpienia ostrego odrzucania jest większe, stosuje się wyższe dawki leków, w dalszym okresie minimalizuje się dawki i liczbę stosowanych leków. Celem przewlekłej terapii immunosupresyjnej jest zastosowanie najmniejszej liczby leków w najniższych dawkach, które jednak zapewniają dobrą funkcję narządu przeszczepionego. Terapia immunosupresyjna niesie bowiem ze sobą dobrze poznane efekty uboczne, z których wymienić należy powikłania infekcyjne, metaboliczne, przekładające się na choroby sercowo-naczyniowe,

choroby nowotworowe oraz bezpośrednie uszkodzenie polekowe różnych narządów i układów, w zależności od profilu grup lekowych. Dodatkowo, inhibitory mTOR oraz inhibitor dehydrogenazy monofosforanu inozyiny mykofenolan mofetylu, prezentują bardzo istotnie wyrażone efekty uboczne ze strony przewodu pokarmowego. Biegunka jest najczęstszą przyczyną odstawienia tych preparatów. Z kolei, inhibitory kalcyneuryny, będące podstawą współczesnych schematów leczenia immunosupresyjnego są głównie nefrotoksyczne, chociaż informacje zawarte w ich ChPL wskazują także na częste występowanie objawów niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego. To, wraz z faktem kojarzenia leków z różnych grup, może negatywnie wpływać z jednej strony na skuteczność schematu, z drugiej zaś na systematyczność przyjmowania leków przez pacjenta. Wybrane przez Doktoranta schematy immunosupresyjne należą do tzw. protokołów standardowych, co oznacza ich częste użycie w praktyce klinicznej, stąd przedmiot dysertacji Kandydata uważam za ważki i ciekawy, a także zasadny klinicznie i praktycznie. Szczegółowe zapoznanie się z pracą pozwoliło mi na sformułowanie następującej oceny.

1. Wartość naukowa rozprawy

a) Oryginalność badań

Podstawą ubiegania się o stopień doktora przez lek. med. Piotra Wiśniewskiego jest monografia, dotycząca wpływu leków immunosupresyjnych na stan morfologiczny nabłonka jelita. Badanie przeprowadzono na modelu zwierzęcym, a zastosowane schematy leczenia immunosupresyjnego różnią się, od dotychczas opisanych w literaturze. Są bowiem zbliżone do tych stosowanych w praktyce klinicznej, co świadczy o oryginalności badania.

b) Wartość naukowa

Przedstawiona do recenzji monografia wskazuje na właściwie dobrany warsztat badawczy, bardzo dobre i staranne przygotowanie do prowadzonych badań na modelu zwierzęcym. Dodatkowo, rozprawa doktorska zawiera przejrzystą, właściwie dobraną do prezentowania określonego typu wyników, dokumentację graficzną.

2. Wartość merytoryczna rozprawy

Recenzowana monografia napisana została w klasycznym układzie.

We Wstępie Autor szczegółowo opisał budowę jelita ssaków oraz porusza kwestię połączeń międzykomórkowych nabłonka jelitowego. Wymienia tu białka, które są przedmiotem jego analizy, natomiast w mojej opinii brakuje w tym miejscu nieco krótkiej ich charakterystyki, która uzasadniałaby właśnie ten wybór do dalszej oceny, w założonym celu.

Kolejny punkt Wstępu to rodzaje i mechanizm działania leków immunosupresyjnych, które są dostępne w armamentarium transplantologów.

Następnie Kandydat formułuje cel pracy oraz cele szczegółowe, służące jego realizacji.

W sekcji Materiał i Metody Doktorant opisał sposób przeprowadzenia doświadczenia oraz badania morfologiczne jelit szczurzych, przy użyciu histochemii, histomorfometrii, immunohistochemii i analizy cyfrowej otrzymanych obrazów.

Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania Statistica 13, testami Szapiro-Wilka, one-way ANOVA i testu Tukeya, a wyniki przedstawiono w postaci średnich arytmetycznych $\pm$ SD i mediany, przyjmując za istotność statystyczną wartości $p < 0.05$.

W rozdziale Wyniki, zaprezentowano je zgodnie z kolejnością zaproponowanych celów szczegółowych, każdy wynik opatrując stosowną ryciną. Ocena histomorfometryczna wysokości nabłonka jelitowego szczurów w grupie kontrolnej i badanych przedstawiona jest

w postaci tabeli, a istotność statyczna oznaczona jest gwiazdką, wyjaśnioną w legendzie, jednak nie jest to łatwo czytelne. W podpisie jest dodatkowo pewna nieścisłość – wynik przedstawiony jest postaci $AM \pm SD$, czy mediany $\pm SD$? Komentarz do tej części wyników mógłby być mniej lakoniczny, niż jedno zdanie, tym bardziej że istotne różnice zaobserwowano.

W opisie, dotyczącym wyników analizy cyfrowej obrazu, w zakresie wyników badań immunohistochemicznych i zawartości włókien kolagenowych, przedstawiono je w postaci zdjęć preparatów oraz kolorowych grafów, a także grafów, przedstawiających pole i obwód zajmowany przez badaną tkankę oraz intensywność jej wybarwienia, ułatwiających interpretację. Tabela 2, odnosząca do tej części wyników nie jest jednak przejrzysta i łatwa do zrozumienia, sugerowałabym w tym miejscu przynajmniej bardziej szczegółową legendę.

Kolejny rozdział przedstawionej mi do recenzji rozprawy to Dyskusja, w której Doktorant jasno wskazuje na niekorzystny wpływ schematu immunosupresyjnego TAC+RAPA+GKS, polegający na jego działaniu proapoptotycznym, na komórki błony śluzowej jelita, w tym komórki nabłonka. Inhibitory kalcyneuryny (CNI), które były podstawą immunosupresji w grupie badanej, ale i są w życiu realnym, powodują także zmiany w immunоекспресји i immunolokalizacji białek, uczestniczących w tworzeniu połączeń między enterocytami nabłonka jelitowego, zarówno w białkach tworzących połączenia zamykające, jak i białkach przylegania. Ten negatywny efekt działania widoczny jest bardziej w grupie zwierząt doświadczalnych, przyjmujących Takrolimus, najczęściej obecnie stosowany CNI. Z kolei cyklosporyna z tej samej grupy lekowej, bardziej stymuluje procesy włóknienia w obrębie błony śluzowej jelita u szczurów.

Kandydat odnosi wyniki własne do dostępnych danych literaturowych. Należy jednak podkreślić, że tych ostatnich nie jest dużo, bowiem w pracy Doktorant zaproponował trójlekowe schematy leczenia immunosupresyjnego, czyli takie, jakie najczęściej są

stosowane u biorców narządów unaczynionych, ale nie w pracach doświadczalnych. Poczytuję to za oryginalność badań i aspekt praktyczny pracy, celem ewentualnej translacji wyników na model ludzki.

Mając świadomość ograniczeń, wynikających z badań na modelu zwierzęcym, Doktorant ostrożnie konkluduje, że wyniki przedstawionego projektu otwierają kolejną drogę do dyskusji, dotyczącej optymalizacji i personalizacji leczenia immunosupresyjnego, opartego o inhibitory kalcyneuryny.

Kolejny rozdział rozprawy to Wnioski, podsumowane w punktach oraz Streszczenie w języku polskim, z bardzo korzystnym przedstawieniem otrzymanych wyników w punktach.

Rozdział 8 to Piśmiennictwo – 107 publikacji, cytowanych w kolejności pojawiania się w tekście oraz Spis tabel, rycin i schematów, pochodzących z niniejszego badania.

3. Poprawność redakcyjna rozprawy

Monografia wraz ze wszystkimi załącznikami liczy 61 stron. Zaprezentowany, klasyczny układ jest typowy dla prac naukowych, rozprawa jest starannie wyedytowana i opracowana. Praca charakteryzuje się jednolitym stylem tekstu, formą 2 tabel, 3 schematów i 11 rycin oraz 107 pozycji literaturowych.

4. Uwagi krytyczne

Przedstawione przeze mnie powyżej uwagi krytyczne nie umniejszają wartości rozprawy, a jedynie mogą zachęcić do pewnych zmian sposobu prezentacji wyników w przyszłej publikacji.

5. Ocena końcowa

Monografia ma charakter doświadczalny, wykorzystuje nowoczesny warsztat aparaturowy, co potwierdza nabycie odpowiednich kompetencji do prowadzenia badań naukowych przez Doktoranta. Praca zawiera ciekawe sugestie i perspektywy dalszych badań.

Uwzględniając powyższe stwierdzenia wskazuję, iż ocena końcowa recenzowanej rozprawy doktorskiej jest w pełni pozytywna, a praca jest oryginalnym i wartościowym dorobkiem Doktoranta i Ośrodka, z którego pochodzi.

Recenzowana rozprawa doktorska lek. med. Piotra Wiśniewskiego

pt. **„WPŁYW DŁUGOTRWAŁEJ TERAPII IMMUNOSUPRESYJNEJ**

NA KOMÓRKI NABŁONKA JELIT U SZCZURA”

spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 poz.1668 z późn. zmianami), w związku z czym wnioskuję

do Rady Naukowej dyscypliny Nauk Medycznych

Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego

w Szczecinie o dopuszczenie lek. med. Piotra Wiśniewskiego

do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 17 maj 2023r

data sporządzenia recenzji

Ykarciej Wykomonke

podpis recenzenta