



# Warszawski Uniwersytet Medyczny

## Klinika Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych

02-006 WARSZAWA ul. Nowogrodzka 59, tel. (22) 502 16 31, fax (22) 502 21 26

Kierownik:

Prof. dr hab. med. Magdalena Durlik

e-mail: [mdurlik@wum.edu.pl](mailto:mdurlik@wum.edu.pl)

Warszawa, 2023-06-05

Dr hab. n. med. Jolanta Gozdowska

Klinika Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

[jolanta.gozdowska@wum.edu.pl](mailto:jolanta.gozdowska@wum.edu.pl)

### RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

lek. Piotra Wiśniewskiego

### WPŁYW DŁUGOTRWALEJ TERAPII IMMUNOSUPRESYJNEJ NA KOMÓRKI NABŁONKA JELIT U SZCZURA

Promotor: dr hab. n. med. Karolina Kędzierska-Kapuzka

Promotor pomocniczy: dr n. med. Kamila Szumilas

POMORSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W SZCZECINIE

Leki immunosupresyjne prowadzą do obniżenia odporności organizmu. Farmakologiczne leczenie immunosupresyjne stosuje się po przeszczepieniu narządów unaczynionych oraz komórek hematopoetycznych aby zapobiec odrzuceniu, a także w leczeniu chorób wynikających z autoagresji. Leki immunosupresyjne prowadzą do osłabienia bądź zahamowania odpowiedzi układu odpornościowego poprzez hamowanie procesu wytwarzania i dojrzewania komórek odpornościowych.

Siła immunosupresji zależą od: wrażliwości osobniczej, dojrzałości immunologicznej, rodzaju i ilości antygeny, dawki i ekspozycji leku immunosupresyjnego oraz rodzaju odpowiedzi immunologicznej. Leki te stosuje się w określonych schematach, w zależności od przeszczepianego narządu, stopnia ryzyka immunologicznego, nasilenia zaburzeń metabolicznych, obecności schorzeń współistniejących oraz czynności przeszczepu. Dawki leków immunosupresyjnych niezbędnych do utrzymania czynności przeszczepu zmniejszane się po upływie pierwszych kilku

miesiący. Stosowanie immunosupresji jest konieczne od momentu przeszczepienia narządu do czasu ustania jego funkcji (poza rzadkimi przypadkami pełnej tolerancji immunologicznej biorcy). Oprócz wymaganego i oczekiwanego efektu leczenia, stosowanie immunosupresji upośledza układ immunologiczny, zwiększając ryzyko wystąpienia infekcji, nowotworów złośliwych, chorób układu krążenia czy zahamowania czynności szpiku kostnego. Jak zauważa Doktorant, dane dotyczące wpływu leków immunosupresyjnych na morfologię wielu narządów są ogólnie dostępne. Niewiele jednak wiadomo o efekcie włączenia schematów lekowych immunosupresji na integralność bariery nabłonkowej jelita, zwłaszcza cienkiego, gdzie następuje kontynuacja procesów trawienia oraz wchłanianie składników pokarmowych. Skutki immunosupresji na układ jelitowy mogą obejmować m.in. upośledzenie funkcji regeneracyjnej, upośledzenie odpowiedzi immunologicznej oraz zmniejszenie integralności błony śluzowej. Zaburzenia jelitowe związane z lekami immunosupresyjnymi są istotnym czynnikiem ryzyka utraty przeszczepu lub śmierci pacjenta. Leki te prowadzą do różnych i specyficznych wzorców zmian patofizjologicznych bariery jelita cienkiego i grubego. Patomechanizmy i częstość występowania zaburzeń nie zostały w pełni poznane. Badanie przeprowadzone przez Doktoranta na modelu zwierzęcym nakierowane jest na zbadanie części mechanizmów mogących mieć wpływ na komórki nabłonka jelita.

### **Ocena formalna rozprawy**

Oceniana dysertacja została wykonana na materiale archiwalnym, przechowywanym w Klinice Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, w postaci bloczków parafinowych z zatopionymi fragmentami jelita cienkiego. Materiał pobrano od dojrzałych płciowo samców szczurów. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Bioetycznej do spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Szczecinie.

Rozprawę rozpoczyna spis treści obejmujący 8 pozycji. Następnie został umieszczony wykaz skrótów, poprawnie rozwiniętych w języku polskim i angielskim. Zgodnie ze spisem treści pozycją numer jeden jest wstęp, który obejmuje 15 stron. Jest on podzielony na trzy części z dalszymi podpunktami. We wstępie Doktorant wnikliwie opisał budowę morfologiczną jelita, połączenia pomiędzy komórkami nabłonka jelitowego. Zostały także wymienione grupy leków immunosupresyjnych stosowanych w transplantologii oraz zostały pisane mechanizmy działania głównie tych leków, które były wykorzystywane w prezentowanym badaniu. W dalszej kolejności Doktorant przedstawił cel badania, którym była ocena wpływu przewlekłego podawania szczurom leków immunosupresyjnych z grupy inhibitorów kalcyneuryny –



cyklosporyny (CRG) i takrolimusu (TRG), skojarzonych z rapamycyną i glikokortykostteroidem, na morfologię i funkcję błony śluzowej jelita cienkiego.

Szczegółowa analiza obejmowała:

1. Ocenę morfologiczną błony śluzowej, ze szczególnym uwzględnieniem nabłonka kosmków jelitowych;
2. Ocenę histomorfometryczną parametrów nabłonka kosmków jelitowych;
3. Ilościową analizę cyfrową dotyczącą: procesu apoptozy komórek nabłonkowych kosmków; immunoekspresji białek połączeń pomiędzy komórkami nabłonkowymi kosmka oraz zawartości włókien kolagenowych typu I w kosmkach jelitowych.

Do przeprowadzenia wyżej wymienionego doświadczenia wykorzystano 18 samców szczurów szczepu Wistar, które podzielono na grupy – kontrolną i 2 doświadczalne (CRG oraz TRG), po 6 osobników w każdej grupie. Zwierzęta doświadczalne otrzymywały przez okres 6 miesięcy farmaceutyczne postaci leków immunosupresyjnych, według schematu opartego na trzech lekach immunosupresyjnych. Do oceny wpływu leków na przewód pokarmowy szczurów wykorzystano jelita wszystkich zwierząt. Pobrane materiały poddano analizie histochemicznej, histomorfometrycznej, immunohistochemicznej (z użyciem czterech przeciwciał). Przeprowadzono także analizę cyfrową obrazów.

Wyniki zostały przedstawione w sposób wyjątkowo dobrze przemyślany, tabele i ryciny starannie porządkują przedstawione dane i ułatwiają ich analizę. Uzyskane wyniki badań oceniono przy użyciu dobrze dobranych metod statystycznych. Przeprowadzono ciekawą dyskusję w oparciu o wyniki innych opublikowanych prac badających podobne zagadnienia.

Pozwoliło to to na sformułowanie czterech kluczowych wniosków:

1. Inhibitory kalcyneuryny wpływają negatywnie na wysokość nabłonka jelitowego.
2. Takrolimus w połączeniu z rapamycyną i glikokortykosteroidem wywiera proapoptotyczny efekt na komórki nabłonka błony śluzowej jelita.
3. Takrolimus w połączeniu z rapamycyną i glikokortykosteroidem wpływa destrukcyjnie na połączenia międzykomórkowe w nabłonku jelit.
4. Zwiększona zawartość włókien kolagenowych w błonie śluzowej jelita szczurów w grupach doświadczalnych, może wskazywać stymulację procesu włóknienia. Cyklosporyna, w połączeniu z rapamycyną i glikokortykosteroidem, powoduje największe zmiany zwłóknieniowe w obrębie błony śluzowej jelita szczurów.

W dalszej części rozprawy doktorskiej umieszczono bibliografię, która obejmuje 107 pozycji, w tym 50 z ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo jest dobrze dobrane i właściwie cytowane. Pracę

kończy streszczenie w języku polskim i angielskim oraz spis rycin (11), schematów (3) oraz spis tabel (2).

Z obowiązku recenzenta zamieszczam uwagi, głównie edytorskie (wskazane ujednolicenie czcionki, pogrubień, pochyleń oraz zapisu bibliografii).

Wstęp zawiera bardzo rozbudowany opis budowy morfologicznej jelita. Wydaje się, że bardziej wartościowe byłoby opisanie roli jelita w utrzymaniu homeostazy organizmu.

Pewnym ograniczeniem pracy jest niska liczebność badanych grup szczególnie grupy CRG, w której 2 szczury nie przeżyły (czy znana jest przyczyna?).

Wyżej wymienione uwagi nie wpływają na wartość merytoryczną i naukową pracy doktorskiej ani pozytywną ocenę całej pracy.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi oryginalne dokonanie Doktoranta, lek. Piotra Wiśniewskiego i świadczy o opanowaniu warsztatu pracy doświadczalnej oraz dojrzałości naukowej, wymaganych od kandydata na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Wyniki badań Doktoranta poszerzają naszą wiedzę na temat wpływu długotrwałej terapii immunosupresyjnej na komórki nabłonka jelit u szczurów, które *per analogiam* mogą dotyczyć pacjentów stosujących badane leki. Przeprowadzone doświadczenie może stanowić wstęp do dalszych badań, oceniających inne mechanizmy wywierane przez leki immunosupresyjne na przewód pokarmowy, co pomogłoby zrozumieć przyczyny ograniczonej tolerancji i powikłań a także pozwoliłoby na opracowanie metod zaradczych, prewencyjnych.

Doktorant podjęła ważny z punktu widzenia naukowego temat badawczy, sformułował interesujące cele pracy, zastosował właściwe metody umożliwiające ich realizację oraz wykazał umiejętność analizy uzyskanych wyników w świetle aktualnej wiedzy i właściwego wnioskowania. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1688).

Mam zaszczyt i przyjemność zwrócić się do Wysokiej Rady Naukowej Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego z prośbą o dopuszczenie lek. Piotra Wiśniewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med. JOLANTA GOZDOWSKA  
lekarz specjalista  
chorób wewnętrznych  
nefrologii  
transplantologii klinicznej  
6719793

