

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

lek. med. Grzegorza Niemczyka

**n.t.: „Ekspresja receptorów TLR w modelu zwierzęcym przeszkody
podpęcherzowej”.**

Rozprawa doktorska lek. Grzegorza Niemczyka została przygotowana pod opieką promotora prof. dr. hab. n. med. Agnieszki Cudnoch-Jędrzejewskiej, Kierownika Katedry i Zakładu Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Promotorem pomocniczym w tym przewodzie była dr n. med. Katarzyna Czarzasta.

Przedstawiona rozprawa doktorska n.t.: „Ekspresja receptorów TLR w modelu zwierzęcym przeszkody podpęcherzowej”, ma typowy układ. Na 105 stronach zostały zawarte streszczenie w języku polskim i angielskim oraz praca główna podzielona na 9 rozdziałów, zawierająca 17 rycin i 8 tabel.

W przedstawianej pracy Doktorant podjął się oceny ekspresji receptorów TLR w modelu zwierzęcym przeszkody podpęcherzowej, jej związku ze stanem zapalnym ściany pęcherza i wpływu powszechnie stosowanego leczenia dolegliwości ze strony dolnych dróg moczowych antagonistą receptora $\alpha 1$ -adrenergicznego. Hipoteza badawcza obejmowała istnienie zjawiska "cross-talk", czyli wzajemnej komunikacji receptorów TLR i $\alpha 1$ -adrenergicznych, a przez to możliwości zmniejszenia ekspresji receptorów TLR i tym samym ograniczenia procesów zapalnych w ścianie pęcherza moczowego poprzez blokadę receptorów $\alpha 1$ -adrenergicznych. Tematyka pracy jest niezwykle istotna w świetle danych epidemiologicznych wg których objawy ze strony dolnych dróg układu moczowego związane z przeszkodą podpęcherzową występują aż u 22% populacji ludzi po 20 roku życia, z czego większość dotyczy mężczyzn. Przewlekłe utrzymująca się przeszkoda podpęcherzowa jest powodem rozwoju zapalenia w ścianie pęcherza moczowego, mogącego ostatecznie prowadzić do nieodwracalnej dysfunkcji tego narządu. Perspektywa leczenia farmakologicznego zmian zapalnych w ścianie pęcherza moczowego byłaby milowym krokiem w tej dziedzinie medycyny.

Głównym celem pracy, jaki sobie postawił doktorant była ocena ekspresji receptorów TLR 4 i TLR 9 w pęcherzu moczowym w modelu zwierzęcym przeszkody podpęcherzowej. W ramach celu głównego lek. Grzegorz Niemczyk zidentyfikował cele szczegółowe, które obejmowały:

- Zbadanie wpływu przeszkody podpęcherzowej na poziom ekspresji receptorów TLR 4 i TLR 9 w urotelium oraz warstwie mięśniowej pęcherza moczowego
- Zbadanie wpływu antagonisty receptora $\alpha 1$ -adrenergicznego na poziom ekspresji receptorów TLR 4 i TLR 9
- Zbadanie ekspresji receptorów $\alpha 1$ -adrenergicznych w urotelium oraz warstwie mięśniowej pęcherza moczowego
- Ocena natężenia stanu zapalnego w pęcherzu moczowym z przeszkoda podpęcherzową z uwzględnieniem wpływu antagonisty receptora $\alpha 1$ -adrenergicznego
- Ocena stężenia wybranych interleukin (IL-1 β , IL-6, IL-18) w osoczu i moczu z uwzględnieniem wpływu antagonisty receptora $\alpha 1$ -adrenergicznego

Nadmienić należy, iż dotychczas nie podejmowano próby jednoczesnej oceny ekspresji receptorów TLR i $\alpha 1$ -adrenergicznych w urotelium i warstwie mięśniowej pęcherza moczowego, co świadczy o nowatorskim podejściu do zagadnienia. Tak sformułowane cele pracy przemawiają za dojrzałością badawczą Autora, oraz o jego umiejętności krytycznej analizy danych naukowych.

Część badawcza pracy poprzedzona jest obszernym 25 stronnym wstępem, popartym literaturą fachową, odzwierciedlającym aktualny stan wiedzy w zakresie podjętych badań i uzasadniającym wybór tematu.

Metodyka pracy nie budzi zastrzeżeń merytorycznych. Nieco myląca jest informacja błędnie identyfikująca grupy leczone tamsulozyną (str. 48). Nie podano również ile osób wytwarzało przeszkodę podpęcherzową i przeprowadzało operacje pozorowane oraz ilu histopatologów, oceniało pobrane preparaty. Informacje te są istotne ze względu możliwe różnice w skuteczności i powikłaniach zabiegu między operatorami jak i wynikami oceniających. Wyniki histopatologiczne mogłyby być bardziej wiarygodne, jeśli byłyby weryfikowane przez niezależnego histopatologa. Dane epidemiologiczne uzasadniają wybór grupy doświadczalnej. Badanie przeprowadzono na 32 szczurach rasy Sprague Dawley płci męskiej, podzielonych na 4 równe grupy, z których dwie pierwsze (1 i 2) poddano operacji pozorowanej, a dwie kolejne (3 i 4) operacji wytworzenia przeszkody podpęcherzowej. Następnie grupa 1 i 3 otrzymywały placebo, a grupy 2 i 4 były leczone tamsulozyną. Po 15 dniach eksperymentu pobierano badania krwi i moczu, a szczury poddawano eutanazji celem pobrania materiału do badania histopatologicznego. Protokół badania uzyskał zgodę I Lokalnej

Komisji Etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach w Warszawie (Uchwała nr 158/2016). W planowaniu badania zwraca uwagę fakt precyzyjnego doboru grupy badanej pod względem liczebności, wieku i masy ciała, a czas trwania doświadczenia został poparty danymi z literatury fachowej.

Wyniki zostały przedstawione w formie opisowej oraz w postaci tabel, rycin i wykresów na 23 stronach, w sposób przejrzysty i niebudzący wątpliwości. Pewien niedosyt budzi brak podania wartości stężenia interleukin w przypadku prezentacji otrzymanych wyników w formie wykresów, oraz brak informacji, dlaczego mimo wstępnej kwalifikacji do badania 32 zwierząt, ostatecznie oceniono ich 29. Mimo relatywnie małej liczebności grup (6-8 przypadków), do oceny wyników Doktorant użył adekwatnych metod statystycznych pozwalających na wiarygodne wnioskowanie. Uzyskane wyniki zostały szczegółowo omówione i skonfrontowane z najnowszymi doniesieniami literatury fachowej, a liczba cytowanych w pracy publikacji naukowych dotyczących badanego zagadnienia wyniosła 155, co świadczy o szerokim zakresie wiedzy Doktoranta w badanym temacie. Tym bardziej jestem ciekawy jak Doktorant wytłumaczyłby istotny wzrost ekspresji receptora TLR 4 w warstwie mięśniowej ściany pęcherza moczowego w grupie 2, poddanej tylko operacji pozorowanej, ale leczonej tamsulozyną?

Konsekwentnie przeprowadzone badania umożliwiły Doktorantowi sformułowanie trafnych wniosków, dokładnie odpowiadających celom pracy:

- ekspresja receptorów TLR 4 i TLR 9 wzrasta w komórkach urotelium pęcherza moczowego u szczurów z przeszkodą podpęcherzową, co może wskazywać na udział tych receptorów w procesach patofizjologicznych w ścianie pęcherza moczowego
- receptory $\alpha 1$ -adrenergiczne wraz z TLR 4 i TLR 9 są obecne w tych samych warstwach pęcherza moczowego, co umożliwia wystąpienie zjawiska cross-talk pomiędzy nimi;
- przeszkoda podpęcherzowa indukuje rozwój przewlekłego stanu zapalnego ściany pęcherza moczowego i wzrost stężeń IL-1 β w osoczu i IL-6 w osoczu i moczu;
- przewlekła blokada receptorów $\alpha 1$ -adrenergicznych nie wpływa istotnie na ekspresję receptorów TLR 4 i TLR 9 w ścianie pęcherza moczowego u szczurów z przeszkodą podpęcherzową, natomiast powoduje zmniejszenie stężenia niektórych wykładników stanu zapalnego w osoczu i moczu.

Konkludując wyniki swojej pracy, lek. Grzegorz Niemczyk sugeruje potrzebę kontynuacji badań i próby wdrożenia do leczenia farmakologicznego leków blokujących receptory TLR 4 i TLR 9 w celu ograniczenia zmian zapalnych i wstecznych w ścianie pęcherza moczowego, z czym się w pełni zgadzam.

PODSUMOWANIE

Reasumując, przedstawiona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2013 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.). Stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a jej wyniki mogą być opublikowane w liczącym się międzynarodowym czasopiśmie naukowym.

Uwagi poczynione przeze mnie w niniejszej recenzji w żadnym stopniu nie umniejszają wartości rozprawy doktorskiej lek. Grzegorza Niemczyka, ale wymagają adekwatnego odniesienia się do nich przed ewentualną publikacją wyników pracy.

Niniejszym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. med. Grzegorza Niemczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W związku z nowatorskim podejściem do zagadnienia patofizjologii dysfunkcji pęcherza moczowego w przebiegu przeszkody podpęcherzowej, bardzo dobrym warsztatem badawczym Doktoranta oraz stworzonym perspektywom do kontynuacji tych niezwykle istotnych badań wnioskuję o wyróżnienie pracy.

dr hab. n. med. Arkadiusz Lubas

