

17.01.2020

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Grzegorza Niemczyka pt. „Ekspresja receptorów TLR w modelu zwierzęcym przeszkody podpęcherzowej”.

Przeszkoda podpęcherzowa dróg moczowych stanowi istotny problem epidemiologiczno-kliniczny współczesnej doby, dotyczący zwłaszcza mężczyzn po 60 r.ż., cierpiących na przerost gruczołu krokowego. Ma on znaczenie nie tylko w dziedzinie urologii zabiegowej, ale także, a może przede wszystkim, w związku z zapalnym uszkodzeniem pęcherza moczowego, będącym powikłaniem długotrwanie utrzymującej się przeszkody podpęcherzowej. Ten aspekt omawianego zaburzenia wymaga szczegółowej oceny pod względem teorii stanu zapalnego i urologicznej praktyki klinicznej. Pierwsza przesłanka dotyczy patogenezy przewlekłego stanu zapalnego, w tym wyjaśnienia roli receptorów TLR i układu adrenergicznego w jego powstaniu i modyfikacji. Możliwość uzyskania wpływu na modulację zapalenia wywołanego przez przeszkodę podpęcherzową otwiera nowe kierunki optymalizacji farmakoterapii tego stanu. Tak więc wybór tematyki rozprawy uważam za właściwy i stwarzający potencjał do wzbogacenia wiedzy na temat teorii stanu zapalnego i praktyki zachowawczego postępowania terapeutycznego w chorobach dolnych dróg moczowych.

Doktorant wybrał model doświadczalny przeszkody podpęcherzowej u szczurów do realizacji postawionych sobie celów rozprawy, co jest w pełni uzasadnione. Zamieszczony w pracy opis zwierząt doświadczalnych i przebiegu eksperymentu jest pod względem etycznym i poznawczym wyczerpujący oraz spełniający wymogi formalne. Liczba szczurów w poszczególnych grupach badawczych i kontrolnych jest miarodajna dla ujęcia eksperymentalnego. Dotyczy to również niezbędnej w eksperymencie kontrolnej operacji pozorowanej. Wybór parametrów badawczych jest uzasadniony koniecznością zachowania spójności wyводу. Podobnie, nie budzi zastrzeżeń metodyka badań histologicznych i immunohistochemicznych, w tym użytych do ilościowej oceny intensywności stanu zapalnego, umożliwiających analizę parametryczną. Metody analizy statystycznej są właściwie dobrane i dostosowane do specyfiki pracy eksperymentalnej.

Rozprawa doktorska została przygotowana w układzie typowym dla opracowań tego rodzaju i liczy 105 stron druku, przy czym wstęp obejmuje 27 stron, metody badawcze przedstawiono na 8 stronach, opis wyników zajmuje 22 strony, a dyskusję umieszczono na 9 stronach. Z opisu wyników autor wyciągnął 4 reprezentatywne wnioski. Materiał ilustracyjny obejmuje 17 rycin i 8 tabel i wyróżnia się przejrzystością i estetyką. Prócz tego z tekstu dyskusji doktorant wyróżnił własne

uwagi krytyczne co do ograniczeń rozprawy, zgodnie z współczesnymi wymogami stawianymi publikacjom naukowym.

Głównym celem pracy była weryfikacja założenia, że przeszkoda podpęcherzowa nasila ekspresję receptorów TLR4 i TLR9 w pęcherzu moczowym i na tej drodze przyczynia się do indukcji stanu zapalnego, jako rezultatu zaburzeń odpływu moczu z pęcherza. Prócz tego autor postawił sobie za cel ustalenie, czy przeszkoda w odpływie moczu powoduje również wzrost ekspresji receptorów $\alpha 1$ adrenergicznych, sąsiadujących z receptorami TLR, co mogłoby świadczyć o współpracy („cross-talk”) między receptorami tych klas w indukcji stanu zapalnego. Przedmiotem ustaleń miał również być wpływ leków blokujących receptory $\alpha 1$ na nasilenie stanu zapalnego i ekspresję receptorów TLR4 i TLR9 w pęcherzu z przeszkodą podpęcherzową, a także efekt leków anty-adrenergicznych na stężenie prozapalnych cytokin IL1- β , IL-6 i IL-18.

Uzyskane wyniki potwierdzają zasadność założeń, iż przeszkoda podpęcherzowa powoduje wzrost ekspresji receptorów TLR4 i TLR9 w nabłonku moczowym szczurów Sprague Dawley. Autor stwierdził również wzrost ekspresji receptorów $\alpha 1$ adrenergicznych w tych samych warstwach pęcherza, co miało miejsce w przypadku receptorów TLR4 i TLR9 po implantacji przeszkody podpęcherzowej. Stwarza to możliwość interakcji między tymi receptorami w wywołaniu stanu zapalnego. To stwierdzenie nie oznacza jednak, że współpraca między tymi receptorami została przez doktoranta dowiedziona, a jedynie wykazano ich wzmożoną ekspresję w bezpośrednim sąsiedztwie.

Istotną obserwacją jest również fakt, iż przeszkoda podpęcherzowa indukuje rozwój przewlekłego stanu zapalnego w ciągu 15 dni, co może oznaczać powstanie nieodwracalnych zmian w pęcherzu moczowym, upośledzających czynność pęcherza. Przewlekła blokada receptorów $\alpha 1$ adrenergicznych nie wpływa znacząco na poziom ekspresji badanych receptorów TLR w tym modelu doświadczalnym, natomiast indukuje zmniejszenia niektórych wykładników stanu zapalnego w osoczu krwi i w moczu.

Tak więc wyniki prac badawczych przekonywająco dowodzą słuszności hipotez, a wywód jest przeprowadzony w sposób spójny i jednoznaczny, co do głównego przesłania, zachowując przy tym wielowątkowość. Dyskusja obejmuje wszystkie aspekty zagadnienia, w sposób autokrytyczny, choć twórczy, odnosząc się do słabych stron pracy. Przy tej okazji komentarz do uwagi 2 zgłoszonej w rozdziale „Ograniczenia pracy”. Oznaczenie stężenia prozapalnych cytokin w surowicy krwi tylko pośrednio odzwierciedla ich aktywność w tkance pęcherza – wydaje się, że bardziej właściwą byłaby w tym celu immunoidentyfikacja w tkance pęcherza samych cytokin, lub odpowiedniego dla nich mRNA i ich ocena ilościowa.

Diskusja jest w pracy wszechstronna i poparta najnowszym piśmiennictwem, co dotyczy nie tylko samej dyskusji, ale i całości rozprawy. O aktualności cytowanych prac świadczy fakt, że cytowania z ostatnich 6 lat stanowią 42,6% całości bibliografii.

Podsumowując, uważam, że rozprawa doktorska lek. Grzegorza Niemczyka pt. „Ekspresja receptorów TLR w modelu zwierzęcym przeszkody podpęcherzowej” spełnia warunki określone w art. 13 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. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn.zm.)”.

Zważywszy niewątpliwy wkład tej niniejszej rozprawy w rozwój wiedzy na temat patogenezы stanu zapalnego oraz informacje praktyczne dotyczące farmakoterapii dolnych dróg moczowych, składam wniosek o wyróżnienie rozprawy. Jednocześnie występuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Grzegorza Niemczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Zbigniew Hruby

Zbigniew Hruby 27.01.2020

Prof. dr hab. Zbigniew Hruby
specjalista chorób wewnętrznych
i nefrologii
Wrocław, ul. Tunelowa 22
7760009 tel. 603-803-207