

prof. dr hab. n. med. Henryk Zieliński
Wojskowy Instytut Medyczny
Centralny Szpital Kliniczny MON
Klinika Urologii Ogólnej, Czynnościowej i Onkologicznej
ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa,

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarza Łukasza
Kupisa pt. „Ocena ekspresji genów patogenów wirusowych w ścianie
patologicznie zmienionych żył powróżka nasiennego.”**

Żyłki powróżka stanowią (ŻPN) najczęstszą przyczynę niepłodności pierwotnej i wtórnej u mężczyzn i chociaż ich częstość występowania zbliżona jest do około 15% to są one czynnikiem odpowiadającym za niepłodność u 35% mężczyzn z niepłodnością pierwotną i blisko 81% z niepłodnością wtórną. Problem ten znany jest od ponad 2 wieków. Pomimo tak długiej historii dopiero w drugiej połowie XX wieku udowodniono pozytywny wpływ leczenia operacyjnego na jakość nasienia i odsetek ciąż. W pewnej grupie pacjentów z ŻPN stwierdza się prawidłowe wyniki badań nasienia, posiadają oni potomstwo, podczas gdy u innych z podobnym stopniem zaawansowania tej choroby występuje szereg nieprawidłowości, a chorzy cierpią z powodu niepłodności nie uzyskując poprawy nawet po zabiegu operacyjnym varicocektomii.

Mechanizm powstawania żyłaków nadal pozostaje niewyjaśniony. Ostatnie hipotezy sugerują ich powstawanie z powodu wewnętrznych zmian w strukturze ścian naczyń, zarówno ich składników komórkowych jak i matrycy zewnątrzkomórkowej. Charakterystyczne dla żyłaków objawy są dowodem, że te właśnie naczynia krwionośne uległy przebudowie. Powstaje jednak pytanie czy powstające zmiany strukturalne występują w naczyniach pierwotnie czy też są następstwem innego toczącego się patologicznego procesu. Z tego też powodu prowadzone są aktualnie badania nad udoskonaleniem procesu diagnostycznego pacjentów z ŻPN oraz lepszą kwalifikacją do leczenia operacyjnego.

W kontekście przedstawionej powyżej problematyki związanej z procesem diagnostyczno-leczniczym pacjenta z żyłakami powróżka nasiennego, badania podjęte i

prezentowane w pracy doktorskiej lek Łukasza Kupisa uważam za bardzo aktualne, ambitne, a przede wszystkim nowatorskie. Problem poruszany w niniejszej rozprawie wydaje się być o tyle istotny, że dotyczy znacznej części społeczności męskiej, w tym również mężczyzn niepełnoletnich.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska liczy 89 stron, 11 tabel, 14 rycin i zawiera 176 pozycji piśmiennictwa. Tradycyjnie dla rozpraw doktorskich została podzielona na rozdziały: wstęp, cel pracy, materiał i metodyka, wyniki, dyskusja, wnioski i piśmiennictwo oraz otrzymała pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. Na początku dysertacji umieszczono spis tabel, rycin i stosowanych skrótów oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Układ pracy typowy dla rozpraw doktorskich zgodny z podstawowymi wymogami metodologii prac naukowych.

W dość obszernym wstępie Doktorant przedstawia aktualny stan wiedzy na temat przyczyn niepłodności oraz porusza wszystkie istotne aspekty związane z żylakami powrózka nasiennego. Wyjaśnia definicję choroby i przybliża jej epidemiologię. Aspekt diagnostyki i tym samym rozpoznawania choroby, tak istotny dla jej dalszej kwalifikacji do leczenia został opracowany odpowiednio obszernie i szczegółowo. Uwzględnia on nie tylko bieżące techniki diagnostyczne ale również te, wykorzystywane historycznie z praktycznym komentarzem ich wad i zalet. Warty podkreślenia jest fakt, iż ta część została dodatkowo wzbogacona o dokumentację zdjęciową wykonaną osobiście przez autora. Ponieważ recenzowana praca jest próbą stworzenia nowej teorii rozwoju żylaków i ich wpływu na jakość nasienia autor omawia także inne obecnie uznawane teorie. Zamieszczone opracowanie dotyczące patofizjologii tej choroby jest przedstawione w jasny i przejrzysty sposób, pomimo złożoności procesów biochemicznych, których dotyczy. Znaczną część wstępu autor poświęcił na zgłębienie tematu leczenia chirurgicznego poczynając od rysu historycznego, przez opis dostępnych technik zabiegowych, na wskazaniach do leczenia kończąc. Ta ostatnia część zawiera informacje o najnowszych doniesieniach naukowych w tej dziedzinie i obecnie badanych nowych możliwościach wykorzystania chirurgii żylaków, uwzględniając bieżące wytyczne towarzystw naukowych. Następnie autor przechodzi do opisu trudnych zagadnień związanych z badaniem wirusów oraz ich związku z układem zarówno moczowo-płciowym jak i krwionośnym. Celem pracy była analiza

porównawcza stopnia ekspresji genów patogenów wirusowych w ścianach żył powróżka nasiennego u chorych z żylakami i bez żylaków.

Autor na potrzeby badania stworzył dwie grupy pacjentów. Pierwsza, stanowiąca grupę badaną składała się z 20 pacjentów poddanych operacji mikrochirurgicznej warikocelktomii podpierścieniowej. Grupę kontrolną stanowiło 10 pacjentów poddanych operacji naprawy przepukliny pachwinowej metodą klasyczną. U pacjentów z obydwu grup w trakcie operacji pobierany był co najmniej 1cm długości fragment żył powróżka nasiennego. Uzyskany materiał po przygotowaniu był poddany analizie laboratoryjnej tj. ocenie stopnia ekspresji genów badanych wirusów z wykorzystaniem metody PCR.

W opracowaniu wyników autor zgodnie z zaleceniami producenta wykorzystanych do analizy testów posługiwał się wartością LOD (limit of detection) czyli minimalną liczbą kopii DNA wirusów wymaganą aby wynik był uznany za dodatni. Autor nie uzyskał w żadnej z opracowywanych próbek w wyniku powyżej wymaganego poziomu, wobec czego wszystkie wyniki słusznie uznał za ujemne. W swym opracowaniu postanowił jednak poddać porównawczej analizie statystycznej dwa najczęściej pojawiające się w wynikach wirusy. Analiza ta nie wykazała jednak różnic istotnych statystycznie. Autor tym samym dał wyraz swojej dużej determinacji i dociekliwości, właściwej dla tak nowatorskiego kierunku badań. Uzyskane dane zostały przedstawione w tabelach i opatrzone odpowiednimi objaśnieniami. Uwagi wymaga fakt, że metoda PCR nie była do tej pory walidowana w tego typu materiale, co zostało ujęte przez autora.

W dalszej części pracy Doktorant poprowadził wnikliwą i rzeczową dyskusję, w której krytycznie omawia uzyskane wyniki własnych badań i przekonywująco je interpretuje, konfrontując z najnowszymi doniesieniami w piśmiennictwie. Autor wykazał się bardzo rozległą wiedzą nie tylko na temat żylaków powróżka nasiennego ale również z zakresu chirurgii naczyniowej, angiologii czy mikrobiologii. Cytowane w dyskusji piśmiennictwo jest dowodem szczegółowego podejścia do opracowywanego zagadnienia.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż niniejsza praca ma charakter bardzo nowatorski. Istnieją na świecie pojedyncze badania zaplanowane w podobny sposób, a

badań skupiających swoją uwagę na związku patologii ściany żyłaków powróżka z infekcją wirusową jak do tej pory nie podejmowano. Wobec tak nowatorskiego pomysłu na podejście do omawianej tematyki, trudny był do przewidzenia przebieg badania oraz jego wyniki. Zostało to również rzetelnie omówione i wytłumaczone w dysertacji. Z pewnością wartościowym walorem pracy jest fakt, iż zaplanowane badanie miało charakter prospektywny. Autor podjął aktualny i istotny z punktu widzenia praktyki klinicznej temat. Żyłaki powróżka nasiennego są chorobą częsta, a mimo to nadal w wielu aspektach niejasną. Praca jest przejrzysto zaplanowana i napisana zrozumiałym językiem. Autor udowadnia jej wysokie walory praktyczne. Jest również dowodem na biegłą znajomość zagadnień będących jej tematyką. Należy zwrócić uwagę na fakt, iż praca zawiera materiały graficzne wykonane przez autora nie tylko dokumentujące proces diagnostyczny, w tym ultrasonografię, ale także z operacje, które autor osobiście wykonywał. Świadczy to dużym zaangażowaniu autora w każdy aspekt prowadzonych badań i osobisty nadzór nad nimi. Doktorant wykazał również umiejętność samodzielnego rozwiązywania problemu badawczego.

Z obowiązku recenzenta pragnę przedstawić swoje uwagi i zastrzeżenia:

- stosunkowo mała grupa badana 10 pacjentów, szczególnie jeśli chodzi o grupę kontrolną i dlatego analiza statystyczna w takich przypadkach powinna być bardzo ostrożna. Autor sam krytycznie odnosi się do tego ograniczenia powołując się na aspekt psychologiczny jakim jest pobieranie z założenia zdrowych tkanek
- nie wszystkie cele pracy zostały właściwie opracowane. Dotyczy to szczególnie celów 1 i 2. Celem zasadniczym pracy nie było pobieranie tkanek a ocena ilościowa i porównawcza stopnia ekspansji DNA wirusowego, którą uzyskano dzięki pobieraniu fragmentów żył powróżków nasiennych
- wnioski końcowe nie w pełni odpowiadają stawianym celom pracy i powinny być przereklamowane. Dotyczy to szczególnie wniosku 1 i 3, które mają raczej charakter wyników, a wniosek 5 ma charakter domniemania naukowego, nie do końca opartego na przesłankach jakich dostarczyły wyniki przeprowadzonych badań.

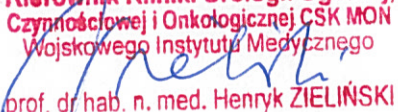
Mimo tych drobnych uwag stwierdzam, że rozprawa doktorska została opracowana wzorowo pod względem redakcyjnym jak i językowym, dzięki czemu czyta się ją łatwo i z dużą przyjemnością. Stanowi ona oryginalny fragment badań naukowych

przyczyniających się do postępu wiedzy o leczeniu żylaków powrózka nasiennego. Świadczy o dobrym opanowaniu przez Doktoranta warsztatu badawczego, dojrzałości, wnikliwości i samodzielności naukowej.

W podsumowaniu oceny rozprawy doktorskiej lekarza Łukasza Kupisa pt. „Ocena ekspresji genów patogenów wirusowych w ścianie patologicznie zmienionych żył powrózka nasiennego” mogę stwierdzić z pełnym przekonaniem, że jest ona oryginalnym osiągnięciem naukowym Doktoranta. Świadczy ona o umiejętności samodzielnego planowania badań naukowych, umiejętności ich realizowania oraz zdolności do krytycznego interpretowania wyników własnych na tle dostępnego piśmiennictwa.

Rozprawa doktorska 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 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.)”

Wnoszę wniosek do Wysokiej Rady Dyscyplin Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Łukasza Kupisa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik Kliniki Urologii Ogólnej,
Czynnościowej i Onkologicznej CSK MON
Wojskowego Instytutu Medycznego

prof. dr hab. n. med. Henryk ZIELIŃSKI