

Akceptuję  
H. J. W.

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne  
lek. Michała Mierzejewskiego**

**„Ocena mechanizmów pleurodezy chemicznej ze szczególnym  
uwzględnieniem odpowiedzi zapalnej i profibrogennej komórek  
międzybłonna w modelu *in vitro*.”**

Pleurodeza chemiczna jest zabiegiem wykonywanym od ponad 100 lat u chorych z nawracającym: płynem w jamie opłucnowej lub odma opłucnową. Pomimo bardzo długiej historii tego zabiegu i jego dużego znaczenia praktycznego, temat ten nie należy do często wybieranych celów badań naukowych, a tym bardziej tematów prac doktorskich w Polsce. Wynika to pewnie przede wszystkim z trudności metodologicznych w prowadzeniu badań w tym zakresie. W związku z tym wybór tak trudnego tematu oraz postawienie sobie jako głównego celu opracowanie modelu badań *in vitro* różnych środków wywołujących pleurodezę chemiczną oceniam jako bardzo ambitny i ciekawy temat prac doktorskiej.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska składa się z trzech publikacji anglojęzycznych, z czego dwie z nich zostały opublikowane w czasopiśmie z IF. Dodatkowo doktorant opisał w języku polskim połączone informacje ze wszystkich publikacji w układzie typowej, choć skondensowanej, rozprawy doktorskiej.

Pierwsza publikacja „Chemical pleurodesis – a review of mechanisms involved in pleural space obliteration” to artykuł poglądowy opublikowana w czasopiśmie Respiratory Research w roku 2019, w którym doktorant był pierwszym autorem. Praca ta stanowi bardzo dobrze napisane kompendium wiedzy na temat pleurodezy chemicznej oraz informacji w jaki

sposób czynniki obliterujące ją wywołują. Wg bazy Web of Science pracą jak dotąd została zacytowana już 29 razy, co świadczy o jej międzynarodowym znaczeniu. W moim odczuciu praca jest bardzo dobrze napisana, stąd też nie dziwi mnie, że jest tak często cytowana.

Drugi artykuł „Primary human mesothelial cell culture in the evaluation of the inflammatory response to different sclerosing agents used for pleurodesis” został opublikowany w roku 2021 w czasopiśmie *Physiological Reports*. Główne odkrycie tej pracy stanowi fakt, że komórki międzybłonna opłucnej izolowane od człowieka mogą być hodowane *in vitro* i że w odpowiedzi na czynniki obliterujące produkują różne cytokiny, chemokiny oraz czynniki wzrostowe. Doktorant zgodnie z prawdą podał, że artykuł ten w chwili składania pracy doktorskiej nie miał wskaźnika IF. Jednak w ostatniej aktualizacji wskaźników IF z końca czerwca czasopismo to otrzymało po raz pierwszy IF w wysokości 2,5 i ten wskaźnik powinien zostać przypisany do tego artykułu, gdyż został wyliczony w oparciu o cytacje artykułów w 2022, które były opublikowane w roku 2020 i 2021 w tym czasopiśmie. Praca ta jak dotąd została 2 razy zacytowana, z czego 1 raz stanowi autocytacja z kolejnego artykułu z cyklu prac do doktoratu.

W trzecim artykule „Impact of Factors Secreted by Tumor Cells on Response of Pleural Mesothelial Cells to Different Sclerosing Agents in an In Vitro Model” opublikowanym w czasopiśmie *Medical Science Monitor* w 2022 doktorant podjął się wilce ambitnego i ciekawego zadania czy czynniki wydzielane przez komórki nowotworowe mogą wpływać na stopień odpowiedzi komórek międzybłonna na środki obliterujące.

Przedstawione przez doktoranta wyżej omówione prace oceniam pozytywnie. Szczególnie na pochwałę zasługuje moim zdaniem pierwszy artykuł poglądowy opublikowany w najlepszym czasopiśmie i często cytowany. Dwie pozostałe prace oryginalne miały dokładnie rozpisany, ciekawy i ambitny plan badawczy. Na podkreślenie zasługuje także, że doktorant wybrał trudny obszar badawczy, w którym rzadko goszczą w takiej roli lekarze klinicyści.

W dodatkowych materiałach, napisanych w języku polskim, o układzie skondensowanej rozprawy doktorskiej, doktorant zawarła dane pochodzące z opublikowanych prac i poszerzył je o pewne informacje nieobecne w pracach oryginalnych. Dotyczy to przede wszystkim rozdziałów „Wstęp”, „Założenia i cele pracy” i „Wnioski”. Cele pracy oraz wnioski z pracy zostały prawidłowo sformułowane. Wnioski z pracy wynikają z otrzymanych wyników oraz korespondują z celami badania. Tę część doktoratu oceniam także pozytywnie jak omówione powyżej trzy prace.

#### Uwagi krytyczne:

W publikacji nr 2 wzrosty ekspresji mRNA badanych cytokin, chemokin i czynników wzrostu wydają się relatywnie większe w wielu przypadkach w porównaniu do kontroli. Brak jednak znamienności statystycznej w tych różnicach. Brakuje mi wyjaśnienia doktoranta z czego może to wynikać. Czy przyczyną była zbyt mała liczba powtórzeń (z czym związana jest zbyt słaba siła statystyczna?), czy też czas, po którym badano wzrost ekspresji nie był odpowiedni (6 i 24 godzin mogło być zbyt późnym czasem?), czy też doktorant widzi jakąś inną przyczynę? Podobnie w tej samej pracy brak było znamiennych wzrostów stężeń białek cytokin i chemokin w porównaniu kontroli. Znowu powstaje pytanie czy liczba powtórzeń nie była za mała, aby wykazać znamienności statystyczne, które być dałoby się wykazać dla IL-1beta, w przypadku kilku badanych środków stymulujących (np. talku i doksycykliny). Biorąc pod uwagę powyższe moje uwagi, uważam, że stwierdzenia doktoranta zawarte np. w streszczeniu takie jak: „Najbardziej wyraźną odpowiedź zaobserwowano po ekspozycji komórek na talk, co obserwowano jako wzrost ekspresji mRNA IL-1β i wzrost stężenia IL-1β w supernatancie hodowli. Hodowle stymulowane niższymi dawkami talku wykazywały **znaczący** wzrost ekspresji mRNA IL-1β **w porównaniu z kontrolą** i **istotny** wzrost stężenia białka IL-1β po 24 godzinach ekspozycji **w porównaniu z kontrolą**. Wyższa dawka talku spowodowała znaczny wzrost wytwarzania IL-1β po 6 i 24 godzinach.” oraz „**Wykazaliśmy**, że prozapalna odpowiedź międzybłonna obejmuje **wzrost ekspresji mRNA IL-1β i produkcji białka**, co sugeruje rolę IL- 1β w tworzeniu i utrzymywaniu odpowiedzi zapalnej podczas pleurodezy.” za nieuzasadnione otrzymanymi wynikami (brak znamienności statystycznej) oraz z tym co doktorant i współautorzy napisali w części „wyniki” opublikowanego artykułu „Primary human mesothelial cell culture in the evaluation of the inflammatory response to different sclerosing agents used for pleurodesis”.

Interpretacja wyników w pracy nr 3: O ile dobrze zrozumiałem założenia pracy oraz hipotezę badawczą, doktorant założył, że komórki nowotworowe mogą zmniejszać skuteczność pleurodezy poprzez blokowanie mechanizmów sprzyjających obliteracji wywoływanych przez pleurodezę chemiczną. Czyli w uproszczeniu hipoteza badawcza brzmiałaby następująco: substancje sklerotyzujące działając na komórki międzybłonka indukują zapalenie (produkcję m.in. cytokin) co jest jednym z głównych mechanizmów wywołujących pleurodezę chemiczną, natomiast komórki nowotworowe blokują (zmniejszają) skuteczność pleurodezy poprzez hamowanie zapalenia. Tak to opisał doktorant w streszczeniu: „Przyjęliśmy więc hipotezę, że czynniki wydzielane przez komórki nowotworowe mogą mieć negatywny wpływ na przebieg reakcji komórek międzybłonka na leki i w efekcie prowadzi do mniejszej skuteczności pleurodezy.” Analizując jednak wyniki pracy nr 3 można wyraźnie zaobserwować wzrost, a nie spadek produkcji zarówno mRNA (w większości nieznamiennej) jak i białek (w większości znamiennej) w supernatancie z hodowli komórek nowotworowych. Wbrew zatem hipotezie badawczej stan zapalny w badaniu ulegał nasileniu w obecności czynników produkowanych przez komórki nowotworowe, a nie zmniejszeniu jak było zakładane. Inaczej mówiąc wyniki eksperymentów z pracy nr 3 należałoby traktować nie jako potwierdzenie hipotezy badawczej, a jej zaprzeczenie, np. pisząc coś w rodzaju: na podstawie wyników badania nie potwierdziliśmy, aby komórki nowotworowe wpływały negatywnie na przebieg reakcji zapalnej wywoływanej przez czynniki sklerotyzujące.

Podsumowując uwagi dotyczące pracy doktorskiej lek. Michała Mierzejewskiego chciałbym serdecznie pogratulować doktorantowi i promotorowi ciekawego pomysłu i dobrze zrealizowanej pracy doktorskiej. Opisanie powyżej uwagi krytyczne w żadnym przypadku nie wpływają na moją wysoką ocenę tego doktoratu. Podjęcie tak ważnej tematyki, wysoki poziom merytoryczny pracy oraz umiejętność posługiwania się warsztatem naukowym upoważniają mnie do stwierdzenia, że 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.). Na tej podstawie mam zaszczyt zwrócić się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie lek. Michała Mierzejewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

prof. dr hab. n. med. Adam Barczyk

Kierownik Katedry i Kliniki Pneumonologii

Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach

Śląskiego Uniwersytetu Medycznego



