Dr hab. n.med., dr n. hum. (filozofia)
Sławomir Letkiewicz prof. nadzw.
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej we Wrocławiu
Polskiej Akademii Nauk

Recenzja rozprawy doktorskiej

lekarza Piotra Karaszewskiego pt.: „*Ocena aktywności prolidazy i ekspresji oksydazy prolinowej w osoczu pacjentów z chorobą Peyroni*" przedstawionej mi do oceny przez Wysoką Radę Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Choroba Peyronie – jest stosunkowo rzadką chorobą, ale bardzo dokuczliwą. Nazwa choroby pochodzi od nazwiska nadwornego lekarza króla Francji Ludwika XV Francoisa Gigot de la Peyroni, który jako pierwszy opisał w 1743 roku trzech pacjentów z objawami stwardnienia prącia.

Etiologia i patogeneza choroby są do dzisiaj nieznane. Przypuszcza się, że przyczyną powstania choroby są mikrourazy osłonki białawej prącia, do których dochodzi podczas stosunków płciowych. Skutkiem tych urazów jest reakcja zapalna, w wyniku której dochodzi do zmiany struktury tkanki łącznej w twardą płytkę włóknistą. Staje się to przyczyną skrzywienia prącia w różnym stopniu. W skrajnych przypadkach może ono utrudniać lub wręcz uniemożliwiać współżycie intymne.

Na chorobę Peyroni zapadają mężczyźni najczęściej po 50 roku życia. Objawy to skrzywienie prącia i związane z tym bolesne wzwody

Epidemiologicznie częstość występowania schorzenia waha się od 0,4 do 9% populacji męskiej. Większą częstość występowania choroby obserwuje się u diabetyków.

Czynnikami, które mogą predysponować do zapadania na chorobę Peyroni są cukrzyca, alkoholizm, nadciśnienie, zaburzenia gospodarki lipidowej, kardiomiopatia niedokrwienna, nikotynizm, zaburzenia erekcji. Choroba przebiega dwufazowo. Pierwsza faza ma charakter ostry, natomiast druga przewlekły.

Rozpoznanie choroby nie jest trudne. Właściwie zebrany wywiad, badanie palpacyjne prącia i ultrasonografia pozwalają rozpoznać schorzenia.

Leczenie zaawansowanej postaci choroby Peyroni jest trudne. Świadczy o tym mnogość proponowanych środków i metod terapii. Skuteczność zaś jest problematyczna. Istnieje potrzeba usystematyzowania i wskazania tych metod, które mogą być obiektywnie przydatne w leczeniu tego kłopotliwego dla mężczyzn schorzenia. Takie trudne wyzwanie podjął lekarz Jacek Karaszewski.

Jako praktykujący urolog spotykam się w swojej pracy z pacjentami, którzy cierpią na chorobę Peyroni. Muszę przyznać, że zauważyłem brak opracowań krajowych, które byłyby pomocne w uzupełnieniu wiadomości o współcześnie stosowanych metodach leczenia tej choroby. Z dużym zainteresowaniem przyjąłem przedłożona mi do recenzji dysertację, mając nadzieję, że jako praktykujący lekarz będę mógł do wiadomości otrzymać sprawdzoną metodykę diagnostyczno – terapeutyczną choroby Peyroni, którą będzie można wdrożyć do praktyki urologicznej.

Przedstawiona mi dysertacja liczy 106 stron i napisana jest w typowym układzie zawierając 10 rozdziałów, w tym listę 196 pozycji piśmiennictwa, w znakomitej większości zagranicznych, streszczenia pracy w języku polskim i angielskim. Pracę zamyka wykaz najważniejszych skrótów użytych w dysertacji. Autor w tekście zamieścił w tekście 25 rycin. Dysertacja wzbogacona jest o schematy anatomiczne prącia, schematy szlaków enzymatycznych kolagenu,

fotografie obrazujące skrzywienie prącia i dokumentacje badania ultrasonograficznego, kwestionariusz oceny życia płciowego mężczyzny.

We **wstępie – rozdziale I** autor przestawił charakterystykę choroby Peyroni, diagnostykę ustalającą właściwe rozpoznanie oraz obecnie stosowane metody leczenia wśród, których wyróżnił nieoperacyjne i operacyjne. W części dotyczącej leczenia zachowawczego zostały wymienione leki doustne, stosowane miejscowo w postaci iniekcji oraz omówiono inne rodzaje leczenia miejscowego. Dalej w tej części pracy autor omówił budowę anatomiczną prącia, strukturę i metabolizm kolagenu. Kolejnym punktem, który został przedstawiony było wyjaśnienie udziału prolidazy i jej roli w metabolizmie kolagenu. W dalszej części wstępu przedstawiono role oksydazy prolinowej w metabolizmie kolagenu i przedstawiono charakterystykę czynnika transkrypcyjnego NF – kB.

W kolejnym **II rozdziale** autor przedstawił założenia i cel pracy, którymi było:

1. Ocena aktywności prolidazy i ekspresji oksydazy prolinowej w osoczu pacjentów z choroba Peyroni, leczonych miejscowo werapamilem i deksametazonem w postaci iniekcji do płytki osłonki białawej prącia.

2. Ocena wpływu terapii werapamilem oraz deksametazonem w postaci iniekcji do płytki osłonki białawej prącia na przebieg choroby Peyroni.

3. Podjęcie próby opracowania modelu *in vitro* choroby Peyroni oraz wyjaśnienie mechanizmu działania werapamilu i deksametazonu na metabolizm kolagenu.

   Cele pracy zostały określone w zwięzły sposób.

Rozdział III - materiał i metody przedstawia grupę badaną, którą stanowiło 20 mężczyzn leczonych ambulatoryjnie w Poradni Urologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Pacjenci byli poddani terapii zachowawczej werapamilem i deksametazonem. Pierwszy z leków podawano miejscowo w postaci iniekcji do płytki osłonki białawej prącia w dawce 5 mg jeden raz w tygodniu przez okres 10 tygodni. Następnie aplikowano Dexametazon również miejscowo w postaci iniekcji w dawce 8mg, co cztery tygodnie przez okres 6 miesięcy. Grupę kontrolną stanowiło 20 mężczyzn, którzy zgłosili się na badania profilaktyczne do Poradni Urologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku.

Istotnym aspektem i czynnikiem koniecznym do przeprowadzenia badań w obu grupach było uzyskanie przez doktoranta świadomej zgody od pacjentów na udział w badaniach.

Na uwagę zasługuje wprowadzenie przez autora, obok tradycyjnego układu rozdziałów dotyczących części klinicznej, podrozdziału traktującego o doświadczalnym modelu – *in vitro* choroby Peyroni, gdzie obserwacje empiryczne wykonane były pozaustrojowo. Jest to aspekt pracy, który zasługuje na szczególne uznanie. Doktorant przedstawił w nim między innymi sposób hodowli fibroblastów, pomiar biosyntezy kolagenu, sposób oznaczania aktywności prolidazy, metodykę analizy białek „Western immunoblot", pomiar biosyntezy DNA, metodę oznaczania zawartości białka.

Wyniki oceny stanu klinicznego pacjentów zostały przedstawione przed i po leczeniu w **rozdziale czwartym.** Dotyczyły oceny kąta skrzywienia prącia, wielkości płytki osłonki białawej prącia oraz jakości życia płciowego i zostały ujęte w zwięzły sposób w postaci syntetycznych tabel.

W dalszej części tego rozdziału autor dokonał oceny ekspresji prolidazy w surowicy pacjentów z chorobą Peyroni, aktywności prolidazy, stopnia fosforylacji prolidazy oraz ekspresji oksydazy prolinowej przed i po leczeniu farmakologicznym. Wyniki badań zostały przedstawione w postaci rycin.

Model doświadczalny choroby Peyroni polegał na ocenie wpływu werapamilu i deksametazonu w modelu fibroblastów z mechanicznym uszkodzeniem komórek oraz modelu zapalenia indukowanego przez interleukinę1 na: żywotność komórek, na biosyntezę DNA, na biosyntezę kolagenu, aktywność prolidazy, przeżywalność komórek.

Procedury w obu modelach są identyczne, jednak w pierwszym punkcie obu modeli użyto różnych określeń. Dla modelu fibroblastów – żywotność, a dla modelu z interleukiną – przeżywalność. Są to różne określenia. W punkcie dotyczącym fibroblastów w tytule i opisie ryciny autor używa określenia żywotność, a w punkcie modelu z interleukiną - przeżywalność, z kolei w opisie ryciny jest użyte słowo żywotność. Jest to jednak uchybienie, które w żaden sposób nie obniża wysokiej wartości pracy.

W tej części pracy doktorant dokonał również oceny wzrostu komórek inkubowanych w obecności jednorazowej dawki werapamilu i dexametazonu w modelu fibroblastów z uszkodzeniem mechanicznym i w modelu eksperymentalnego zapalenia indukowanego interleukiną-1. Pomiary były wykonywane w okresie 24, 48 i 72 godzin. Dodatkowo zostało przeprowadzone badanie migracji komórek w eksperymentalnej modelu mechanicznego uszkodzenia powierzchni komórek – gojenia rany w fibroblastach skóry pod wpływem działania werapamilu i dexametazonu.

Wyniki prac empirycznych poddano analizie matematycznej. Obliczono średnie arytmetyczne z poszczególnych pomiarów (n=6) i odchylenia standardowe oraz dokonano analizy statystycznej przy użyciu testu „t" studenta. Za istotnie statystycznie przyjęto różnice pomiędzy średnimi przy $p<0,01$. Większość prób wykazała istotną statystycznie znamienność, co przestawiono we wnioskach w przełożeniu praktyczna na przydatność zastosowanej metody.

W rozdziale V - dyskusji autor przedstawił dotychczasowe doświadczenia w zastosowaniu werapamilu w badaniach na modelach *in vitro* i w terapii choroby Peyronie.

Zwrócił również uwagę, na nieliczne dotychczas doniesienia dotyczące zastosowania werapamilu w formie injekcji w chorobie Peyroni, równocześnie podkreślił jednak, że były to próby skuteczne, prowadzące do znacznego zmniejszenia krzywizny prącia i rozmiaru płytki.

Autor omówił również mechanizm działania i przydatność dexametazonu w dotychczasowych próbach terapii choroby Peyroni.

W dalszej części dyskusji doktorant dokonał analizy wyników swoich badań zwracając uwagę na fakt braku dotychczas wskaźnika biochemicznego, który pozwoliłby monitorować przebieg i proces leczenia.

Zwrócił również uwagę na to, że zastosowanie modelu eksperymentalnego gojenia się ran i zapalenia w hodowlach fibroblastów może stanowić model *in vitro* choroby Peyroni służący do dalszych badań nad tą chorobą.

Dysertację podsumowują trzy syntetyczne wnioski zawarte **w rozdziale 6** – zgodne z narzuconymi sobie celami pracy, między innymi stwierdzające, że:

1. Aktywność prolidazy we krwi może być cechą charakterystyczną i czynnikiem prognostycznym postępu leczenia. Podczas terapii werapamilem i dexametazonem dochodzi do wzrostu aktywności prolidazy w surowicu krwi, czemu towarzyszy kliniczna poprawa zdrowia.

2. Ekspresja prolidazy i oksydazy prolinowej we krwi nie są charakterystyczną cechą dla choroby Peyroni.

3. Wyodrębnienie w przebiegu choroby Peyroni fazy zapalnej i fazy zwłóknienia pozwoliło na opracowanie modelu choroby Peyroni *in vitro*, wykorzystując model eksperymentalnego gojenia ran i zapalenia indukowanego interleukiną-1 w fibroblastach skóry ludzkiej.

W modelu gojenia rany biosynteza kolagenu oraz aktywność prolidazy są hamowane przez werapamil i deksametazon, natomiast w modelu zapalenia indukowanego interleukina aktywność prolidazy była hamowana jedynie przez deksametazon.

Deksametazon pobudza procesy naprawcze – zarastanie eksperymentalnej rany w modelu fibroblastów, natomiast werapamil wykazuje niższą zdolność w tym zakresie, w stosunku do komórek kontrolnych.

Określone przez doktoranta praktyczne znaczenie przeprowadzonych badań stanowi esencję całego żmudnego i eksperymentalnego badania: faza zapalna choroby Peyroni powinna być leczona werapamilem, a faza zwłóknienia zarówno werapamilem i deksametazonem.

Dalsze części dysertacji to: **Rozdział VII – Streszczenie** w języku polskim, **Rozdział VIII – Summary, IX - Wykaz najważniejszych skrótów** oraz **X Piśmiennictwo.**

Tak przedstawiona praca wskazuje, że doktorant jest nie tylko bystrym, spostrzegawczym i pracowitym lekarzem, ale znakomitym badaczem. Trud jaki zadał sobie w trakcie prowadzonej terapii i przeprowadzone przez niego eksperymenty zasługują na najwyższe uznanie.

Prowadzę eksperymenty lecznicze w Polskiej Akademii Nauk w zakresie antybiotykoopornych zakażeń bakteryjnych już kilkanaście lat i zdaję sobie sprawę, że wynik eksperymentu jest zawsze trudny do przewidzenia, a prowadzone badania naukowe przez praktykującego lekarza nie są proste.

Konstrukcja pracy, język naukowy, język polski, opracowanie graficzne, zdjęcia, tabele, ryciny są wysokim poziomie. Na najwyższe uznanie zasługuje

praktyczna strona przeprowadzonych badań w zakresie zarówno terapii jak i obserwacji doświadczalnych.

Podsumowując należy jednoznacznie stwierdzić, że rozprawa lekarza medycyny Jacka Karasińskiego zatytułowana: „Ocena aktywności prolidazy i ekspresji oksydazy prolinowej w osoczu pacjentów z choroba Peyroni" stanowi wyjątkowo cenny merytoryczny wkład w wiedzę o patomechanizmie i metodach leczenia choroby Peyroni. Autor wykazał się dużą wiedzą i skrupulatnością w prowadzeniu swoich obserwacji, zarówno klinicznych jak i eksperymentalnych. Efektem tego są wnioski, które wyznaczają standardy postępowania w ciężkiej przypadłości jaką jest choroba Peyroni.

Będąc bardzo wyczuwalnym na punkcie jakości języka naukowego i czystości języka polskiego, chciałbym podkreślić wysoki poziom językowy pracy zarówno pod względem naukowym jak i polonistycznym. Świadczy to wysokiej kulturze i oczytaniu Doktoranta, nie tylko w zakresie literatury fachowej.

Serdecznie zachęcam Doktoranta do prowadzenia dalszych badań w tym kierunku, jak również do opublikowania wyników swoich obserwacji z tak znakomitego ośrodka, jakim jest Klinika Urologii Szpitala Uniwersyteckiego w Białymstoku.

Skąpe doniesienia w literaturze światowej na temat omawianej choroby świadczą, że zagadnienia choroby Peyroni jest trudne, a o którym przed przeprowadzeniem badań przed Pana lekarza Jacka Karasińskiego niewiele wiedzieliśmy. Analiza piśmiennictwa wykazała, że tylko kilka publikacji wydanych po 2015 i to zagranicznych traktowała o próbach wyznaczenia kierunków w leczeniu choroby Peyroni.

Stwierdzam, że Doktorant spełnił kryteria zgodne z ustawą z dnia 20 lipca 2018 roku o stopniach i tytułach naukowych.

W związku z powyższym zwracam się do Szanownej Pani Dziekan Wydziału Lekarskiego i Stomatologii Pani profesor dr hab. n. med. Iriny Kowalskiej i do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu

Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lekarza medycyny Jacka Karaszewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie mając na uwadze wyjątkowo trudne zagadnienie, którym zajął się doktorant, jak również włożony duży wkład w rozwój medycyny – urologii, ogrom pracy klinicznej i naukowej, wzorcowe opracowanie materiału naukowego, wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek w wyróżnienie i nagrodzenie dysertacji.

Wrocław 27.03.2019 rok.

Dr hab. n. med., dr n. hum. (filozofia)
Sławomir Letkiewicz prof. nadzw.
Specjalista urolog