

Recenzja

rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarz medycyny

Agnieszki Kaliszek-Kiniorskiej pt.

„Udział leptyny w procesie gojenia się okołoporodowych uszkodzeń mózgu”

Leptyna jest białkiem wykrytym stosunkowo niedawno. Oprócz wpływu na zasoby energetyczne ustroju, procesy krwiotworzenia, przebieg ciąży i rozwój płodu leptyny mogą również przyspieszać gojenie się tkanek w skórze i przewodzie pokarmowym. W narządach tych pod wpływem leptyny zmniejszał się obszar uszkodzeń tkanek i rozległość powstających w tym miejscu blizn łącznotkankowych. Udowodniono, że leptyna odgrywa istotną rolę w rozwoju mózgu u człowieka i wielu gatunków badanych zwierząt. Natomiast stosunkowo niewiele wiadomo o wpływie leptyny na proces gojenia się zmian niedokrwiennych mózgu. Mózg ludzki w okresie okołoporodowym wykazuje dużą wrażliwość na działanie czynników uszkadzających takich jak m.in. uraz, niedokrwienie i asfiksja. Ta ostatnia jest jedną z najczęstszych przyczyn zgonów płodów i noworodków oraz zaburzeń neurologicznych i trwałego kalectwa u niemowląt i dzieci.

Podjęte przez Doktorantkę badania mają na celu prześledzenie wpływu leptyny podanej parenteralnie na gojenie się uszkodzeń mózgu u noworodków szczura, powstających w wyniku procesu niedokrwienia/niedotlenienia. Przeprowadzone badania są wartościowe, ze względu na ich potencjalny aspekt praktyczny, ponieważ zwierzęcy model doświadczalny naśladuje okołoporodowe uszkodzenia mózgu u przedwcześnie urodzonych dzieci. Przeprowadzone badania są również cenne ze względu na stosunkowo niewielkie zainteresowanie tym problemem w piśmiennictwie.

Cel pracy sformułowany jest precyzyjnie w trzech zwięzłych punktach. Cel jest konsekwencją dobrze przygotowanego Wstępu będącego zwięzłym, rzeczowym przeglądem piśmiennictwa.

Wstęp wprowadza w problemy, które będą przedmiotem badań Doktorantki i uzasadnia zasadność podjętych badań, które jeśli potwierdzą postawioną hipotezę pozwolą na określenie zmian w poziomie leptyny w surowicy krwi zwierząt doświadczalnych po

niedokrwieniu/niedotlenieniu mózgu oraz ocenę komórek astroglejowych uczestniczących w procesie gojenia się uszkodzeń mózgu pod względem ekspresji receptorów leptynowych wiążących leptyny. Ponadto potwierdzą wpływ rekombinowanej leptyny podanej parenteralnie na rozległość uszkodzeń mózgu po asfiksji oraz na proces gojenia się zmian niedokrwiennych. Do osiągnięcia postawionego celu, Doktorantka wybrała ogólnie już akceptowane metody.

Rozdział **Materiał i Metody** jest zredagowany w sposób zwięzły i prawidłowy.

Badania przeprowadzono na 45 miotach szczurów rasy Wistar, dzieląc je na grupy doświadczalne w zależności od zabiegów niedokrwienia/niedotlenienia oraz podawania leptyny. Oznaczano stężenie leptyny w surowicy krwi metodą radioimmunologiczną. Następnie przebadano mózgowie zwierząt makroskopowo i mikroskopowo w celu oceny uszkodzeń niedokrwiennych mózgu oraz na obecność leptynowego białka receptorowego metodami: immunohistochemiczną, morfometryczną i Western blot. Wyniki poddano analizie statystycznej; wybrane testy statystyczne były adekwatne do wykonanych badań.

Rozdział **Wyniki** rozpoczyna badanie poziomu leptyny w surowicy krwi. U zwierząt po asfiksji poziom leptyny w surowicy był statystycznie znamienne niższy niż u zwierząt kontrolnych. Badania mikroskopowe dotyczące mózgowia wykazały w niedokrwionych półkulach mózgu zmiany jamiste, w największych uszkodzeniach ogniska martwicy; w półkulach niedotlenowanych nie znaleziono wspomnianych zmian mikroskopowych. W barwieniach immunohistochemicznych stwierdzono obecność wokół jam i ognisk martwicy ekspresję receptorowego białka leptynowego (Ob-R, klon M-18) zlokalizowaną w reaktywnych komórkach glejowych, co uzasadnia oddziaływanie leptyny na uszkodzony mózg szczura. W mózgowiu zwierząt po asfiksji po zastosowaniu leptyny nie znaleziono zmian jamistych, co może wskazywać na cytoprotekcyjne działanie leptyny. Natomiast po stronie uszkodzonej występowały ogniska ubytków neuronalnych z reakcją astroglejową (GFAP+). Reakcja ta była większa u zwierząt, które nie otrzymywały leptyny. Ważną obserwacją było stwierdzenie, że masa uszkodzonych półkul mózgu po asfiksji była statystycznie niższa niż masa półkul po nieuszkodzonej stronie, a po podaniu leptyny nie obserwowano takich różnic.

Podział na poszczególne rozdziały i podrozdziały jest utrzymany w jednolitym układzie. Ryciny w poszczególnych podrozdziałach wykonane są wg jednolitego schematu. Logika prezentacji wyników badań jest prawidłowa, a ich interpretacja statystyczna nie budzi zastrzeżeń.

Dyskusja przeprowadzona jest wnikliwie w oparciu o wyniki prac publikowanych przez innych autorów. Doktorantka prawidłowo dyskutuje zbieżność wyników własnych z uzyskanymi przez innych autorów oraz w sposób uzasadniony, nie budzący wątpliwości wyjaśnia przyczynę różnic w wynikach. Dyskusja jest wnikliwa i dojrzała. Świadczy o dużej wiedzy Doktorantki.

Wnioski. Przedstawione wnioski wynikają z przeprowadzonych badań i korelują z celami pracy. Wyniki Doktorantki wykazały, że doświadczalne niedokrwienie/niedotlenienie mózgu w okresie okołoporodowym zaburza dynamikę zmian poziomu leptyny we krwi względem zwierząt kontrolnych. Doświadczalne niedokrwienie/niedotlenienie mózgu prowadzi w uszkodzonych półkulach mózgu do pojawienia się ekspresji receptorowego białka leptynowego na reaktywnych komórkach glejowych, które występuje w dwóch izoformach – długiej i krótkiej. Podawanie leptyny zwierzętom z uszkodzonym mózgiem zmniejsza rozległość zmian niedokrwieniowych i nasila reakcję glejową. Neuroprotekcynna rola leptyny jest reakcją swoistą (białko-receptor) modelując przebieg gojenia i zapobiegającą powstawaniu zmian jamistych w mózgu.

Ocena redakcji pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska w formie oprawionego 74 stronicowego manuskryptu podzielona jest na typowe dla rozpraw przygotowywanych na stopień naukowy rozdziały. Starannie przygotowany spis treści uwzględnia wszystkie typowe części pracy w tym: Wstęp, Cel pracy, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie i Piśmiennictwo. Praca zawiera 23 ryciny, w tym kolorowe zdjęcia mikroskopowe. Strona edytorska pracy jest bardzo staranna. Wszystkie ryciny i pozycje piśmiennictwa znalazły w tekście odpowiednie odniesienie.

Piśmiennictwo zawiera głównie prace oryginalne, publikowane w okresie ostatnich kilku lat w prestiżowych czasopismach naukowych. Wśród cytowanych pozycji autorów zagranicznych są również cytowane prace zespołów polskich. Prace publikowane w czasopismach są cytowane wg kolejności alfabetycznej nazwisk pierwszych autorów i zawierają wszystkie niezbędne szczegóły, by czytelnik mógł odszukać określoną pozycję.

Uwagi

Z pozycji recenzenta mam drobną uwagę w zakresie redakcji pracy dotyczącą umieszczenia przed wstępem wykazu stosowanych skrótów. Ponadto, mam nadzieję, że praca doktorska zostanie opublikowana w recenzowanym czasopiśmie, w związku z tym w przyszłości sugeruję cytowanie prac wg pojawiania się w tekście, a nie wg kolejności alfabetycznej nazwisk pierwszych autorów. Te drobne uwagi są bez znaczenia dla merytorycznej oceny pracy. W kontekście dalszych badań nad rolą leptyny w procesach gojenia się zmian w mózgu podczas rozwoju interesujące byłoby przesłедzenie wpływu różnych dawek podawanej leptyny oraz czasu prowadzonej suplementacji na rozległość formującej się blizny gлевой. Warto byłoby również sprawdzić czy udział leptyny w procesie gojenia ma charakter ogólny, czy jej działania dotyczą tylko badanego przez Doktorantkę okresu rozwoju mózgu.

Wniosek końcowy

Podsumowując, rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust.1 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i stanowi oryginalny dorobek naukowy Autorki, dlatego mam przyjemność wystąpić do Wysokiej Rady II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie lek. Agnieszki Kaliszek-Kiniorskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Diagnostyki Hematologicznej
Instytutu Hematologii i Transfuzjologii
Prof. dr hab. n. med. Monika Prochorec-Sobieszek

Prof. dr hab. n. med. Monika Prochorec-Sobieszek

Warszawa, 20 sierpnia 2018