



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Katedra i Klinika Położnictwa Chorób Kobięcych i
Ginekologii Onkologicznej II WL

Kierownik Katedry i Kliniki: Prof.dr hab.n.med. Włodzimierz Sawicki



Warszawa 16.08.2018

Recenzja rozprawy doktorskiej lek.med. Agnieszki Kaliszek Kiniorskiej pt. "Udział leptyny w procesie gojenia się okołoporodowych uszkodzeń mózgu"

Przyznaję, że z prawdziwą przyjemnością i ogromnym zainteresowaniem zapoznałem się z przedstawioną mi do oceny przez Wysoką Radę Naukową II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego rozprawą na stopień doktora nauk medycznych lek.med. Agnieszki Kaliszek Kiniorskiej. Dotyczy ona bowiem niezwykle ciekawego, mało poznanego a jakże ważnego w aspekcie medycyny perinatalnej problemu jakim jest zagadnienie gojenia i naprawy okołoporodowych uszkodzeń mózgu noworodka. Jak wiadomo jednoczesne niedokrwienie i niedotlenienie prowadzi do asfiksji tkanki i może wywołać jej uszkodzenie, a zjawisko to w okresie okołoporodowym jest najczęstszą przyczyną uszkodzeń mózgu, szczególnie u noworodków urodzonych przedwcześnie. Uszkodzenia te wykazują charakterystyczną lokalizację okołokomorową a zaburzony przebieg procesu gojenia prowadzi do powstania ubytków tkanki nerwowej, prowadząc do porażenia mózgowego o różnym stopniu nasilenia. Wyniki dotychczasowych badań nie dały odpowiedzi na wiele pytań dotyczących zaburzeń samego procesu gojenia i przyczyn powstawania w niedotlenionym mózgu ubytków. Liczne badania prowadzone na zdrowych zwierzętach dowiodły, że prawidłowy rozwój organizmu jest wyraźnie związany z obecnością i poziomem leptyny, której funkcja w tym okresie życia jest całkowicie różna od tej jaka to białko pełni u osób i zwierząt dorosłych.

—

Poziom leptyny statystycznie znamienne wzrasta pomiędzy 7 a 21 dniem życia, czyli dokładnie w okresie rekonwalescencji jaki następuje po wywołanej asfiksji, co wskazuje na wielce prawdopodobny udział tego białka w procesie gojenia.

Podjęcie przez doktorantkę tematu badawczego, u podstawy którego było opracowanie wg. własnej, oryginalnej metodyki, modelu doświadczalnego asfiksji okołoporodowej, który umożliwił zbadania przyczyn i skutków tej patologii uważam za niezwykle ważny z praktycznego punktu widzenia. Stwarza bowiem nadzieję na opracowanie ewentualnej prewencji i skutecznej terapii tych stanów. Doktorantka wywoływała asfiksję u 7-dniowych szczurów, których dojrzałość tkanki nerwowej jest zbliżona do dojrzałości mózgu płodu ludzkiego w 34-26 tygodniu ciąży (życia). Model ten jest wartościowy ze względu na powtarzalność wywoływanych zmian oraz fakt, że występują one jedynie w jednej półkuli mózgu, pozostawiając przeciwległą (nieuszkodzoną) półkulę do obserwacji porównawczych i kontrolnych. Celem podjętych przez doktorantkę badań była ocena wpływu leptyny na proces gojenia się uszkodzeń mózgu wywołanych przez asfiksję w okresie okołoporodowym.

Uważam, że właśnie w ten nurt badań mających ogromne praktyczne znaczenie dla klinicyстів idealnie wpisuje się rozprawa doktorska, którą mam przyjemność recenzować.

Praca posiada układ klasyczny i składa się ze wstępu, celu, materiału i metod, wyników, dyskusji, wniosków, streszczenia oraz wykazu piśmiennictwa. Proporcja objętości poszczególnych rozdziałów jest właściwa, starannie zaplanowana i została napisana niezwykle sprawnie, zrozumiałym językiem i poprawną polszczyzną.

We wstępie Doktorantka szczegółowo omawia charakterystykę leptyny, wraz z historią jej odkrycia, jej rolą w organizmie a szczególnie w rozwoju mózgu podczas ciąży jak też w przebiegu procesu zapalnego oraz asfiksji okołoporodowej.

Ta część rozprawy dowodzi, iż lek. Agnieszka Kaliszek Kiniorska dobrze zna zagadnienia związane z fizjologią i patologią ciąży i porodu, a ponadto umiejętnie wprowadza czytającego w dalsze części ocenianej pracy.

Cel pracy Autorka przedstawiła w formie 3 pytań;

- czy pod wpływem asfiksji zmienia się poziom leptyny w surowicy krwi?
- czy komórki astroglajowe uczestniczące w procesie gojenia posiadają receptory leptynowe zdolne do wiązania leptyny?

- czy leptyna podana parenteralnie wpływa na rozległość uszkodzeń mózgu i występowania zmian jamistych?

W kolejnym rozdziale Doktorantka omawia materiał i metody badawcze: badanie przeprowadzono na 45 miotach szczurów rasy Wistar. Model niedokrwienia/niedotlenienia wywoływano zabiegiem wg. metody opracowanej przez Rice'a w 1981 roku. W zależności od przeprowadzanych czynności zwierzęta doświadczalne podzielono na 5 grup:

- a/ norma- zwierzęta zdrowe nie podlegające żadnym zabiegom (N)
- b/ zwierzęta po przebytych niedokrwieniu i niedotlenieniu (HI)
- c/ zwierzęta po przebytych niedokrwieniu i niedotlenieniu, które otrzymały leptynę (HI+L)
- d/ zwierzęta kontrolne po pozorowanym zabiegu podwiązania tętnicy , które otrzymały rozpuszczalnik (K+R)
- e/ zwierzęta po pozorowanym zabiegu podwiązania tętnic, które otrzymały leptynę (K+L)

Leptynę lub rozpuszczalnik (PBS pH 7,4) zwierzęta otrzymywały od 8 do 20 dnia życia. Oznaczanie poziomu leptyny w surowicy krwi przeprowadzano ośmiokrotnie od 8 do 21 dnia życia, kiedy to pobierano materiał (mózgowie) do badań makroskopowych i wagowych, immunohistochemicznych, morfometrycznych a obecność białka leptynowego oznaczano metodą Western Blot.

Aby zobiektywizować wyniki badań, Doktorantka poddała je analizie statystycznej stosując odpowiednie metody, na właściwym poziomie istotności. Ich dobór uważam za prawidłowy oraz adekwatny do zakresu przeprowadzonych badań.

Po przestudiowaniu bardzo ciekawego rozdziału „wyniki”, który udokumentowany został za pomocą 18 niezwykle przejrzystych rycin, uważam że badania zostały wykonane zgodnie z obowiązującymi przepisami pod względem moralno-etycznym, bez zastrzeżeń pod względem naukowym, dokładnie, a wyniki są wiarygodne.

Autorka wykazała, że po przebytej asfiksji poziom leptyny we krwi zwierząt uszkodzonych jest statystycznie znamienne niższy niż w normie a komórki w obrębie reaktywnej astroglejozy (otaczającej ognisko martwicy) wykazują obecność receptorów leptynowych.

—


Po zastosowaniu suplementacji rekombinowaną szczurzą leptyną u zwierząt poddanych asfiksji stwierdzono powrót masy mózgu do wartości kontrolnych, co wskazywało na zahamowanie postępującego rozpadu tkanki nerwowej, obecność licznych astrocytarnych blizn oraz całkowity brak zmian jamistych w mózgu. Uważam, że te unikalne wyniki badań Autorki dostarczają nowych argumentów merytorycznych pogłębiających wiedzę o modulowaniu przez substancje endogenne procesu gojenia się mózgu, albowiem wykazują, że w okresie rozwoju mózgu leptyna posiada właśnie takie właściwości. Podkreślają jednocześnie potrzebę prowadzenia badań doświadczalnych, wszędzie tam gdzie ze względów humanitarnych nie można prowadzić ich bezpośrednio na ludziach. Dodatkowo zwracają uwagę na znaczenie tkanki tłuszczowej, która jest głównym miejscem produkcji leptyny.

Wyniki wraz z omówieniem podsumowuje umiejętnie, aczkolwiek bardzo zwięźle poprowadzona Dyskusja, która dowodzi kompetencji Doktorantki w przedmiocie badań. Autorka z dużym znanstwem a jednocześnie krytycznie i obszernie wyjaśnia wszystkie aspekty i wątpliwości związane z badanym problemem, porównuje uzyskane wyniki z danymi innych autorów, trafnie dobierając pozycje z bardzo bogatego wykazu piśmiennictwa a w kolejnych podpunktach wypuklając sformułowane przez siebie wnioski. Dowodzi to, że opanowała umiejętność samodzielnego planowania i prowadzenia badań naukowych.

Rozprawę kończą cztery prawidłowo sformułowane wnioski wynikające z osiągniętych wyników oraz odpowiadające postawionym celom. Mimo bardzo szczegółowej analizy tekstu rozprawy nie znalazłem w niej błędów.

W podsumowaniu stwierdzam, że praca spełnia wszelkie wymogi rozprawy doktorskiej, a jej Autorka wykazała się należyłą, ugruntowaną wiedzą. Tezy rozprawy zostały sformułowane przejrzysto, badania starannie zaplanowano i przeprowadzono sprawnie. Autorka udowodniła, że z dużą biegłością posługuje się technikami badawczymi, a także potrafi prawidłowo opracować wyniki badań i formułować wnioski. Należy mieć nadzieję, że na dalszych etapach rozwoju naukowego, lek.med. Agnieszka Kaliszek Kiniorska będzie mogła prowadzić badania o tej tematyce, których kontynuacja może przynieść jeszcze ciekawsze wyniki.

Po wnikliwym zapoznaniu się z treścią rozprawy doktorskiej pt. **"Udział leptyny w procesie gojenia się okołoporodowych uszkodzeń mózgu"** uważam, że jest to praca wnosząca nowe wartości poznawcze, o wyjątkowo dużym znaczeniu w praktyce klinicznej i jako taka w pełni odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom na stopień naukowy doktora nauk medycznych. Dlatego też zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie lek.med. Agnieszki Kaliszek Kiniorskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na podkreślane przeze mnie wyjątkowe znaczenie praktyczne nienagannie przeprowadzonych badań wnioskuję o wyróżnienie rozprawy zgodnie z kompetencją Wysokiej Rady.


KIEROWNIK KATEDRY I KLINIKI
Prof. dr hab. med. Włodzisław Sawicki