

Warszawa 7.08.2019

**OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ  
LEKARZA MARKA WOLSKIEGO pt.  
„OPRACOWANIE EKSPERYMENTALNEGO MODELU MARTWICZEGO  
ZAPALENIA JELIT (NEC) U OSESKÓW SZCZYRZYCH”**

**I. Ogólna charakterystyka treści pracy**

Praca zawiera łącznie 46 stron wydruku komputerowego, w tym 11 rycin i 7 tabel. Załącznikiem do pracy jest Uchwała Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy wydziale Biologii UW wyrażająca pozytywną opinię o eksperymencie. W wykazie piśmiennictwa zamieszczono 51 pozycji w tym 48 w języku angielskim i 3 w języku polskim, publikowanych w okresie od 1964 do 2016.

Praca ma układ typowy dla rozpraw doktorskich i zawiera wszystkie niezbędne elementy.

We wstępie do pracy na podstawie danych z piśmiennictwa Doktorant omawia:

- Definicję, epidemiologię i przebieg kliniczny NEC u noworodków;
- Wykorzystanie modeli zwierzęcych w badaniach nad NEC;
- Czynniki predysponujące do wystąpienia NEC jakie były testowane w dotychczasowych modelach;
- Istniejący dotychczas model szczurzy NEC;
- Cechy jakie powinien spełniać dobrze zaprojektowany eksperymentalny model zwierzęcy NEC.

Tekst wprowadzenia do właściwej części rozprawy doktorskiej jest napisany przejrzysto a dane z piśmiennictwa są podane w sposób uporządkowany i zwięzły. Stanowi to dobrą podstawę do zbudowania koncepcji badania.

Celem Doktoranta było stworzenie eksperymentalnego modelu NEC na oseskach szczurzych. W założeniach pracy Doktorant przyjął, że model ma naśladować warunki panujące w oddziałach neonatologii i intensywnej opieki medycznej, gdzie leczone są noworodki z ryzykiem wystąpienia NEC.

Badania prowadzono w okresie 11.2016-09.2017 w Centrum Badan Przedklinicznych WUM. Do badania włączono 79 osesków szczurzych z których 50 poddano na ekspozycji na czynniki mogących wywoływać NEC:

- Niedotlenienie;
- Wyziębienie;
- Karmienie mieszką sztuczną.

Punktem końcowym wyznaczonym przez Doktoranta było wystąpienie cech histopatologicznych NEC w preparatach jelit wykonanych po dekapitacji osesków. NEC stwierdzono u 13 zwierząt.

Na podstawie własnych obserwacji Doktorant stwierdził, że: stworzony przez niego model eksperymentalny na oseskach szczurzych prowadzi do powstania typowych zmian histopatologicznych występujących w NEC, wcześniactwo nie jest czynnikiem niezbędnym do powstania zmian typowych dla NEC a karmienie mlekiem matki jest czynnikiem chroniącym przed wystąpieniem NEC.

## **II. Ocena poziomu i przydatności pracy**

### **1. Wybór tematu**

NEC jest ciężką chorobą noworodków w wielu przypadkach prowadzącą do zgonu lub poważnych wczesnych i odległych powikłań. Leczenie NEC zarówno farmakologiczne jak i chirurgiczne jest postępowaniem objawowym. Możliwości badania patofizjologii NEC u dzieci są bardzo ograniczone, dlatego stworzenie modelu zwierzęcego tej choroby może przyczynić się do poprawy wyników leczenia.

### **2. Przygotowanie teoretyczne Doktoranta do podjęcia badań**

Doktorant jest absolwentem Wydziału Lekarskiego WUM i Wydziału Zarządzania i Marketingu Szkoły Głównej Handlowej w Warszawie. Odbił szkolenia zagraniczne w Uniwersytecie Medycznym Semmelwiesia w Budapeszcie oraz szpitalach uniwersyteckich w Hanowerze i Kolonii. Od 2012 pracuje w Klinice Chirurgii Dziecięcej WUM, która jest referencyjnym ośrodkiem zajmującym się chirurgią noworodka.

Doktorant jest autorem lub współautorem 6 publikacji (IF=2,02, MNiSW=60) i otrzymywał nagrody i wyróżnienia za prezentacje na zjazdach naukowych.

Doktorant ma doświadczenie w prowadzeniu badań eksperymentalnych na zwierzętach. W 2010 r. realizował badanie określające wpływ doxacykliny na przebudowę ściany aorty u szczura. Niniejsza rozprawa doktorska realizowana jest w ramach studiów doktoranckich rozpoczętych przez Doktoranta w 2015 r. Jej wyniki uzyskały wyróżnienie na XVII Zjeździe Polskiego Towarzystwa Chirurgów Dziecięcych (05.2019).

Doktorant od 2012 r. pracuje w Klinice Chirurgii Dziecięcej WUM, gdzie wykonuje zabiegi operacyjne u dzieci z NEC (7 asyst i 4 zabiegi jako główny operator).

### **3. Umiejętność formułowania problemów badawczych, wyboru metod i organizacji badań**

#### **3.1 Cele i założenia pracy**

Doktorant precyzyjnie sformułował założenia pracy. Model budowany przez Doktoranta różni się od innych modeli częstością zastosowania czynników sprzyjających rozwojowi NEC. W klasycznych modelach ekspozycja była powtarzana, natomiast Doktorant zastosował jednokrotną ekspozycję na każdy z czynników predysponujących do NEC.

Jednym z czynników jakie miały być poddawane ocenie było wcześniactwo ale mimo prób nie udało się uzyskać żywych osesków urodzonych przedwcześnie, dlatego wcześniactwo nie zostało ujęte w opisie modelu.

#### **3.2 Materiał i metody**

Doktorant w rozdziale Materiał i Metody precyzyjnie określił liczebność grupy zwierząt jaką poddał badaniu ale z niejasnych powodów szczegółowy opis poszczególnych miotów Doktorant umieścił w rozdziale Wyniki.

Sposób wywołania porodu przedwczesnego i sposób karmienia mieszanką sztuczną są jasno określone. Podobnie sposób uzyskania niedotlenienia i wychłodzenia osesków ale brakuje informacji o godzinie życia w której oseski były poddawane ich działaniu. Nie

określono też długości trwania całego eksperymentu. Brak tych informacji utrudnia odtworzenie warunków eksperymentu.

Oceny punktu końcowego dokonywał patomorfolog doświadczony w ocenie preparatów noworodków operowanych z powodu NEC. Doktorant planował zastosowanie skali 4-ro punktowej ale w trakcie badania skala ta została uproszczona do skali 3 punktowej. Doktorant zamieścił zdjęcia ilustrujące zmiany histopatologiczne odpowiadające przyjętym stopniom uszkodzenia jelita.

### **3.3 Analiza statystyczna**

W rozdziale poświęconym metodyce badania nie ma opisu metod statystycznych jakie będą używane w pracy. Informacja o metodach statystycznych jest podana jedynie w rozdziale Wyniki.

## **4. Sposób prezentacji wyników**

### **4.1 Wyniki**

Zbiorne wyniki eksperymentu prezentuje tabela 2 (str. 29). Wynika z niej, że NEC wystąpił u 13 z 50 badanych zwierząt w tym u 10 z 14 poddanych działaniu niedotlenienia przez 1 minutę, wyziębionych przez 10 minut i nie otrzymujących pokarmu matki. Przeprowadzona przez Doktoranta analiza statystyczna wykazała, że najważniejszymi czynnikami dla wystąpienia NEC są niedotlenienie i brak pokarmu matki. Pozostałe testy statystyczne w tym analiza ROC wykazały dużą zdolność predykcyjną modelu.

### **4.2 Dyskusja**

W dyskusji Doktorant omawia ograniczenia jakie występują przy projektowaniu modeli zwierzęcych NEC i uzasadnia własny wybór czynników mogących wywoływać chorobę. Doktorant porównuje własny model zwierzęcy z modelami opisywanymi w piśmiennictwie wskazując, że główną różnicą jest częstotliwość działania czynników uszkadzających.

W oparciu o dane z piśmiennictwa Doktorant uzasadnia wybór mieszanki sztucznej do karmienia. Z danych piśmiennictwa wynika, że taki sposób karmienia powodował wysoki (80%) odsetek zgonów. W doświadczeniu Doktoranta wszystkie oseski karmione sztucznie przeżyły. Doktorant tłumaczy to techniką karmienia jaką wypracował w trakcie eksperymentu. Informacja o tej technice powinna znaleźć się w rozdziale Materiał i Metody.

Doktorant omawia dane z piśmiennictwa dotyczące wpływu niedotlenienia i wychłodzenia na ryzyko powstania NEC. Wskazuje, że jednorazowe zadziałanie tych czynników w okresie okołoporodowym może być wystarczające dla wystąpienia zmian o charakterze NEC.

W piśmiennictwie wskazywany jest wpływ protekcyjny pokarmu matki na wystąpienie NEC. Ocena tego czynnika nie była pierwotnie planowana przez Doktoranta, ale w trakcie eksperymentu część osesków nie była w porę odstawiona od matki. Umożliwiło to Doktorantowi modyfikację eksperymentu i uwzględnienie tej zmiennej w analizie, co ostatecznie dało Doktorantowi podstawę do sformułowania wniosku potwierdzającego dane z piśmiennictwa na temat protekcyjnego działania mleka matki na śluzówkę przewodu pokarmowego.

W dyskusji Doktorant omawia punkt końcowy jakim jest histopatologicznie potwierdzone wystąpienie zmian o typie NEC. W tym miejscu Doktorant podaje, że tylko u jednego oseska stwierdzono zmiany histopatologiczne w stopniu I (oddzielanie się

śluzówki) a u pozostałych występowały zanik kosmków lub martwica. Informacje te powinny znaleźć się w rozdziale Wyniki.

#### 4.3 Wnioski

Wnioski są sformułowane prawidłowo i zgodne z celami badania.

### III Ocena edytorska i techniczna

Rozprawa doktorska jest starannie wydrukowana i oprawiona. Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na drobne niedociągnięcia edytorskie:

- Spis treści pozbawiony jest odnośników do numerów stron;
- Spis skrótów nie zawiera wszystkich skrótów używanych w pracy (np. iNOS, LKE, GCSF, EGT, OION, IL10, IL12, IL18);
- Wielokrotnie powtarzane jest objaśnienie skrótu NEC;
- Rycina 3 umieszczona jest w rozdziale 1.3 mimo, że jest ilustracją rozdziału 1.2;
- Dwie tabele oznaczone są numerem 2 (str.26 i 29).

Błędy te w żaden sposób nie umniejszają wartości pracy.

### IV Podsumowanie

1. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lekarza Marka Wolskiego pt. „Opracowanie eksperymentalnego modelu martwiczego zapalenia jelit NEC u osesków szczurzych”:
  - jest pracą oryginalną opartą na własnym badaniu Doktoranta;
  - ma walory poznawcze;
  - umożliwi prowadzenie dalszych badań doświadczalnych nad patofizjologią NEC na modelu zwierzęcym.
2. Autor posiada przygotowanie teoretyczne, w zakresie zagadnień stanowiących przedmiot pracy.
3. Zgłoszone w recenzji uwagi krytyczne nie umniejszają wartości pracy, a korekty mogą być wniesione przy przygotowywaniu pracy do druku.
4. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz.595 z późniejszymi zmianami), warunki art. 179 ust. 1. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późniejszymi zmianami).

Stawiam zatem wniosek do Rady Naukowej Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lekarza Marka Wolskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej dyskusji nad rozprawą.

prof. dr hab.n.med. Marek Woynarowski

prof. dr hab. n. med. Marek Woynarowski  
specjalista chorób dzieci  
gastroenterolog  
4177182