

**KLINIKA ZAKAŻEN NOWORODKA
KATEDRY NEONATOLOGII UM
W POZNANIU**
Dr hab. n. med. JAN MAZELA
GINEKOLOGICZNY-POŁOŻNICZY SZPITAL
KLINICZNY
60-535 POZNAŃ UL. POLNA 33
☎(48) 61-8419409, FAX (48) 61-8419650
e-mail:janco@pol-med.com.pl



**DEPARTMENT OF NEWBORNS'
INFECTIOUS DISEASES**
JAN MAZELA, M.D., Ph.D.
Associate Professor
POZNAN UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES,
POLAND
60-535 POZNAŃ, UL. POLNA 33
☎PHONE: (48)61-8419409
FAX: (48)61-8419650
e-mail:janco@pol-med.com.pl

Poznań 22.12.2020

***Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarza medycyny Kingi Jaworskiej
pt.: „Przepuszczalność bariery jelito-krew jako marker zaburzeń
ogólnoustrojowych”.***

Ostatnia dekada przyniosła znaczne zrozumienie roli mikrobioty jelitowej w prawidłowym funkcjonowaniu jelit. Badania przedkliniczne na modelach zwierzęcych pozwoliły na określenie optymalnej flory jelitowej oraz wskazują na czynniki mogące prowadzić do jej zaburzenia. Natomiast badania kliniczne wykazały, że dysbioza jelitowa, czyli zaburzenia w ilości i składzie poszczególnych bakterii, może być podłożem szeregu jednostek chorobowych, w tym chorób cywilizacyjnych. Liczne badania wykazały, iż zmieniony profil mikrobioty jelitowej może być związany z rozwojem m.in. celiakii, martwiczego zapalenia jelit noworodków (ang. necrotizing enterocolitis, NEC), otyłości, nieswoistych chorób zapalnych jelit, w tym choroby Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, zespołu jelita nadwrażliwego, kolki niemowlęcej, alergii, atopowego zapalenia skóry, chorób neurorozwojowych jak autyzm czy psychiatrycznych jak depresja. Ponadto zaburzenia mikrobioty jelitowej mogą być związane z chorobą Parkinsona, chorobami metabolicznymi jak nadciśnienie tętnicze, cukrzyca typu 2, otyłość, czy chorobami autoimmunizacyjnymi (cukrzyca typu 1, reumatoidalne zapalenie stawów - RZS), i nowotworowymi. Tak wielokierunkowe następstwa dysbiozy jelitowej

związane są z zaburzonym funkcjonowaniem bariery jelito-krew, co jest bezpośrednio związane nie tylko z samym profilem mikrobioty jelita ale również z jej produktami przemiany.

Wobec tej sytuacji potrzebne wydawało się zrozumienie czynników predykcyjnych wystąpienia patologii w obrębie jelit. Doktorantka skupiła się na opracowaniu optymalnej metody diagnozującej dysfunkcję (przepuszczalność) bariery jelito-krew, która nie wymaga podawania substancji egzogennych i jest niezależna od czynników takich jak dieta. Kolejnym aspektem badań było poznanie zmian, jakie zachodzą w stężeniach metabolitów bakteryjnych z wiekiem oraz w nadciśnieniu tętniczym.

Rozprawa doktorska lekarza medycyny Kingi Jaworskiej składa się z 4 recenzowanych publikacji o łącznej punktacji IF=11,209 oraz 280 punktów według wykazu czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na rok 2019. Poniżej lista artykułów:

1. Jaworska, K., Huc, T., Gawrys, M., Onyszkiewicz, M., Samborowska, E., Ufnal, M. An In Vivo Method for Evaluating the Gut-Blood Barrier and Liver Metabolism of Microbiota Products. *Journal of Visualized Experiments*, 10.3791/58456 (140), (2018). DOI:10.3791/58456. **IF 1,108, Punkty MNiSW wg listy z 2019r: 70**

2. Jaworska, K., Konop, M., Bielinska, K., Hutsch, T., Dziekiewicz, M., Banaszekiewicz, A., Ufnal, M. Inflammatory bowel disease is associated with increased gut-to-blood penetration of short-chain fatty acids: A new, non-invasive marker of a functional intestinal lesion. *Experimental physiology*, 104, 1226-1236. (2019). DOI: 10.1113/EP087773. **IF 2,624, Punkty MNiSW wg listy z 2019r: 70**

3. Jaworska, K., Huc, T., Samborowska, E., Dobrowolski, L., Bielinska, K., Gawlak, M., Ufnal, M. Hypertension in rats is associated with an increased permeability of the colon to TMA, a gut bacteria metabolite. *PLOS ONE*, 12(12):e0189310. (2017). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189310>. **IF 2,766, Punkty MNiSW wg listy z 2019r: 100**

4. Jaworska, K., Konop, M., Hutsch, T., Perlejewski, K., Radkowski, M., Grochowska, M., Bielak-Zmijewska, A., Mosieniak, G., Sikora, E., Ufnal, M. TMA but not TMAO increases with age in rat plasma and affects smooth muscle cells viability. *The Journals of Gerontology: Series A* (2019). doi:10.1093/gerona/glz181. **IF 4,711, Punkty MNiSW wg listy z 2019r: 140**

Rozprawa obejmuje 102 strony i zawiera między innymi całe teksty wymienionych wyżej publikacji. Rozpoczyna się spisem treści, wykazem skrótów, streszczeniami w języku polskim i angielskim, następnie wprowadzeniem opisującym poszczególne elementy będące w kręgu zainteresowań doktorantki oraz założeniami i celem rozprawy. Ta część zawarta jest na 16. stronach. Na początku doktorantka opisuje funkcję bariery jelito-krew z uwzględnieniem chorób w których dochodzi do zaburzenia jej funkcji. W sposób bardzo przejrzysty doktorantka przedstawia standardową jak do tej pory metodykę określania dysfunkcji bariery jelito-krew oraz konieczność opracowania metod diagnostycznych niewiążących się ze stosowaniem substancji egzogennych obciążających organizm. To właśnie oznaczanie metabolitów bakteryjnych takich

jak tlenek trimetyloaminy (TMAO) może być markerem chorób układu krążenia związanych z zaburzeniami funkcji jelitowych na czym skupiła się doktorantka. Po wprowadzeniu doktorantka prezentuje jasne cele swoich dociekań naukowych.

1. Opracowanie inwazyjnej metody badania bariery jelito-krew z wykorzystaniem metabolitów bakteryjnych jako markerów [Publikacja nr 1].
2. Opracowanie nieinwazyjnej metody badania bariery jelito-krew w zwierzęcym modelu zapalenia jelit oraz u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit [Publikacja nr 2].
3. Zbadanie przepuszczalności bariery jelito-krew dla metabolitów bakteryjnych na zwierzęcym modelu nadciśnienia tętniczego [Publikacja nr 3].
4. Zbadanie na modelu zwierzęcym zmian jakie zachodzą wraz z wiekiem w przepuszczalności bariery jelito-krew dla metabolitów bakteryjnych [Publikacja nr 4]

Podsumowując wyniki i wnioski wszystkich prac stanowiących podstawę tej rozprawy doktorskiej, należy zwrócić uwagę, że wszystkie z prac były opublikowane w czasopiśmie recenzowanych w związku z tym trudno tutaj podważać już recenzowane manuskrypty, które prezentują bardzo wysoki poziom zarówno metodologiczny jak i poznawczo-dedukcyjny zawarty w dyskusjach ocenianych publikacji. Poniżej przedstawiam najważniejsze tezy każdej z publikacji:

1. W pierwszej publikacji doktorantka wykazała możliwość badania funkcji bariery jelito-krew na modelu *in vivo* z wykorzystaniem próbkowania krwi z żyły wrotnej za pomocą cewnika poliuretanowego na modelu szczurzym, co pozwala na zachowanie perfuzji jelit i nie zależy od funkcji nerek i wątroby. Taka metodyka wg. doktorantki pozwala na bardziej dokładne i miarodajne oznaczanie przepuszczalności bariery jelitowej dla trimetyloaminy (TMA), metabolitu bakterii jelitowych oraz oznaczanie stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych.
2. W drugiej publikacji doktorantka wykorzystwała oznaczanie stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w żyły wrotnej, w kale oraz w krążeniu systemowym na modelu zwierzęcym przewlekłego zapalenia jelit. W tej części pracy jednoznacznie pokazała, że zespół przeziębliwego jelita towarzyszący przewlekłym stanom zapalnym można wykryć na podstawie podwyższonego stosunku stężenia kwasów tłuszczowych we krwi w porównaniu do ich stężenia w stolcu. Ten sam fenomen wykazała w części klinicznej tej publikacji, w której oznaczała stosunek kwasów tłuszczowych we krwi do stolca u dzieci z chorobą Crohna. We wnioskach doktorantka podnosi tezę, że stosunek krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych we krwi do kału może być markerem dysfunkcji bariery jelito-krew.
3. W kolejnej publikacji doktorantka skupiła się na określeniu roli tlenu trimetyloaminy w chorobach układu krążenia. W tym celu wykorzystwała model zwierzęcy nadciśnienia

tętniczego gdzie wykazała, że osobniki ze spontanicznym nadciśnieniem tętniczym miały wyższe stężenia trimetylaminy w żyłach wrotnej, słabszą perfuzję jelit i zmienioną morfologicznie śluzówkę jelita. Co ciekawe zarówno normotensyjne jak i hipertensyjne zwierzęta mają podobne stężenia zonuliny i okludyny. Na tej podstawie doktorantka zasugerowała, że to właśnie wysokie stężenia tlenu trimetylaminy w niewydolności krążenia potwierdza uszkodzenie bariery jelito-krew. I to właśnie zwiększona przepuszczalność bariery jelitowej dla trimetylaminy jest odpowiedzialna za wysokie stężenia TMAO w surowicy krwi.

4. Kontynuując poszerzanie wiedzy na temat gospodarki trimetyloaminy, doktorantka wraz z zespołem badała stężenie TMA i TMAO w zależności od wieku, oraz wpływu cytotoksycznego tych substratów metabolizmu bakteryjnego jelit na komórki mięśniówki gładkiej ściany jelitowej. Doktorantka wykazała wzrost stężenia TMA w surowicy krwi z wiekiem oraz ich cytotoksyczny wpływ na komórki mięśniówki gładkiej ściany jelita. Co ciekawe nie wykazano toksycznego wpływu wysokich stężeń TMAO na barierę jelito-krew. Również nie wykazano istotnych różnic w stężeniu TMA w treści jelitowej w zależności od wieku. W związku z tym można było stwierdzić, że podwyższone poziomy TMA w surowicy są następstwem przesiąkliwego jelita i nieprawidłowej funkcji bariery jelitowej. Doktorantka w tej pracy postawiła hipotezę, że dieta bogata w owoce morza może być odpowiedzialna za wyższe stężenia TMAO. W przeciwieństwie do TMA, TMAO nawet w bardzo wysokich stężeniach nie ma szkodliwego działania na układ krążenia, a wręcz działa ochronnie. W związku z tym swoją pracę kończy wyraźnym zaleceniem aby badania kliniczne nad rolą TMAO w chorobach układu krążenia uwzględniały również analizę stężenia TMA w surowicy krwi.

Po zapoznaniu się z powyżej wymienionymi publikacjami stwierdzam, że wyniki i wnioski nawiązują bezpośrednio i odpowiadają celom pracy. Wszystkie badania na zwierzętach uzyskały zgody odpowiednich komisji bioetycznych, oraz doktorantka przedstawiła stanowiska współautorów potwierdzające rolę doktorantki w prowadzeniu badań i przygotowywaniu manuskryptów.

Podsumowując przedstawiony materiał stanowiący podstawę rozprawy doktorskiej mam tylko pozytywne wrażenia bez żadnych uwag krytycznych. W przedstawionej rozprawie doktorskiej występują wszystkie elementy niezbędne do rozprawy na stopień doktora medycyny. Stanowi ona bardzo oryginalny wkład wiedzy na temat mechanizmów jelita przesiąkliwego w aspekcie roli TMA i TMAO. A zwłaszcza roli TMA w holistycznym podejściu do chorób serca uwzględniającym patologię bariery jelito-krew. Z mojego punktu widzenia bardzo ciekawym

byłaby możliwość wykorzystania takich markerów w rozpoznawaniu wczesnych stadiów martwiczego zapalenia jelit u noworodków.

Poza tym stwierdzam, 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.)”.

W związku z opisanymi powyżej faktami mam przyjemność przedstawić *Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego*, wniosek o dopuszczenie lekarza Kinga Jaworska do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Poza tym w związku z wysokim poziomem merytorycznym zawartych w przewodzie publikacji zgłaszam rozprawę do wyróżnienia.

Prof. dr hab. Jan Mazela

