

Recenzja

Pracy doktorskiej lek. Łukasza Adriana Poniatońskiego pt.: ” Wpływ domózgowych podań Atsttrin na procesy neurodegeneracyjne i rozwój reakcji zapalnej w doświadczalnym modelu choroby Parkinsona wywołanym 1-metylo-4- fenylo-1,2,3,6-tetrahydropirydyną (MPTP) u myszy”, wykonanej pod kierunkiem Dr hab. n. med. Ilony Joniec-Maciejak (Promotor) oraz dr n. med. Adrianny Wawer (Promotor pomocniczy).

Przedstawiona do recenzji praca obejmuje 422 stron tekstu poprzedzonego szczegółowym spisem treści oraz wykazem skrótów. Tekst ma układ typowy. W dziewięćdziesięciostronicowym wstępie Doktorant przedstawia w sposób szczegółowy oraz wyczerpujący zagadnienia związane z patogenezą Choroby Parkinsona obejmujący m.in., epidemiologię, etiologię, zagadnienia dotyczące stresu oksydacyjnego, teorię neurozapalną, zmiany w funkcjonowaniu układu immunologicznego, rolę funkcji komórek glejowych, rolę wybranych mediatorów zapalnych i czynników wzrostu.

Wstęp pracy doktorskiej jest wyczerpujący i prezentuje szeroką wiedzę teoretyczną lek. Łukasza Adriana Poniatońskiego, przygotowuje również czytelnika do zagadnień prezentowanych w części metodycznej oraz wynikowej pracy. Wstęp zawiera jednak elementy zbędne m.in. rys historyczny i w nadmiarze rozbudowane elementy dotyczące patogenezы choroby Parkinsona m.in. zaburzenia funkcji mitochondriów oraz cały szereg zagadnień nie badanych w przedstawionej pracy, jak również za nadmiernie rozbudowane zagadnienia nie mające bezpośrednio związku z przedstawionym eksperymentem/pracą m.in. szczegółowy opis na str. 75 dotyczący szczegółowych funkcji i szczegółowej budowy proteasomów. Czytelnik odnosi wrażenie, że te opisywane we wstępie zagadnienia będą badane w przedstawionej rozprawie doktorskiej. Równowaga w samym wstępie oraz pomiędzy wstępem a kolejnymi częściami pracy doktorskiej jest zachwiana np. rozdział 1.1.4.7. dotyczący badanych w pracy neuroprzekaźników został potraktowany skrótowo i ma zaledwie 5 stron a w części wynikowej



zagadnienie dotyczące neuroprzekaźników stanowi połowę prezentowanych wyników. Natomiast inne części nie będące bezpośrednio badane zajmują znacznie większą objętość wstępu. Zdania budowane przez doktoranta są wielokrotnie złożone i często obejmują prawie niemal pół strony. Zdecydowanie polecam używanie kropek w przyszłości. Ułatwi to czytelnikowi dostęp do przekazywanych myśli autora. Prawie każdy podrozdział dotyczący mediatorów zapalnych i czynników wzrostu kończy się tym samym akapitem: *“Dane uzyskane z badań klinicznych oraz analiz przeprowadzonych post mortem w trakcie badań neuropatologicznych wskazują, że pacjenci z rozpoznaną chorobą Parkinsona prezentują wzrost stężenia poziomu...”* Czemu Doktorant kończąc rozdział nie podsumował tego jednym zdaniem? Czytając ten rozdział, odnosi się wrażenie mechanicznego pisania pracy lub fascynacji nowymi technologiami AI.

Autor w rozprawie doktorskiej postawił sobie 6 celów szczegółowych opisanych na stronie 144-145. Dyskusja powinna być prowadzona zgodnie z wymienionymi sześcioma celami, a nie w sposób ciągły.

Uwagi szczegółowe:

Na stronie 101 w rozdziale 1.4.7.1.3. Metabolizm dopaminy w trzech ostatnich wierszach pojawia się nagle zdanie dotyczące noradrenaliny oraz jej metabolitu (MHPG) - czy to zdanie dotyczy MAO-A?

Na stronie 104 doktorant opisuje “Układ glutaminergiczny”. Mam świadomość, że w literaturze polskojęzycznej pojawia się prawdopodobnie błędne określenie (terminologia) “transmisja glutaminergiczna”. Glutaminian (anion kwasu glutaminowego) jest głównym neuroprzekaźnikiem pobudzającym w mózgu, a termin opisujący transmisję powinien być nazywany transmisją glutaminianergiczną. Natomiast transmisja glutaminergiczna dotyczyłaby glutaminy, jeżeli byłaby pełnoprawnym neuroprzekaźnikiem a nie prekursorem glutaminianu. W przypadku glutaminianu mówimy o transmisji glutaminianowej lub najtrafniej - glutaminianergicznej. Na str .105 w podrozdziale 1.1.4.7.4. *Układ GABA-ergiczny* jest użyty jednokrotnie w pracy określenie “glutaminianergicznym”, które moim zdaniem jest prawidłowym określeniem.

Na stronie 106 referencje 608 i 609 są zdublowane - to jest ta sama publikacja.



Na stronie 107 występuje błędne nazewnictwo MPPP (**1-metylo-4-fenylo-4-propionoamidoksyprida**) - poprawna nazwa to: propionian 1-metoksy-4-fenylpiperidyn-4-ylu (ang. 1-methyl-4-phenylpiperidin-4-yl propanoate) lub 4-propionyloksy-4-fenyl-N-metylopiperidyna lub najłatwiejsza nazwa 3-demetyloprodyna.

Część "materiał i metody" obejmuje 25 stron. Znajdują się w niej zbędne szczegóły dotyczące pozwoleń LKE łącznie z numerami Dyrektyw Parlamentu Europejskiego.

W tej części rozprawy brakuje również rozwinięć skrótów na str. 147: ST, CA, CX, CM.

Na stronie 150 oraz 153 czytamy, że Atsttrin był podawany przed podaniami MPTP - czy w badaniu modelowano prewencje choroby Parkinsona?

Na stronie 151 brakuje metabolitu noradrenaliny - MHPG, ocenianego w rozprawie. Na stronie 157 już występuje w opisie badanych monoamin.

Analiza statystyczna została przeprowadzona prawidłowo, jednak w przygotowaniu publikacji z rozprawy proponuję użycie algorytmów ułatwiających późniejszą interpretację danych np. algorytm Boruta. Pozwoli to na redukcję rycin do maksymalnie czterech, a wynik tego algorytmu ukáže relacje pomiędzy badanymi parametrami.

W części wynikowej doktorant prezentuje 63 ryciny. Prawie każdy opis wyniku zawiera zdanie: "Intoksykacja dootrzewnowa MPTP-HCL u myszy szczepu C57BL/6 była związana z obserwowanym ogólnym średnim wzrostem poziomu ekspresji mRNA dla "X" w obrębie wszystkich ocenianych struktur neuroanatomicznych wśród grup kontrolnych (K2/K3)." Doktorant nie podaje przy tym stwierdzeniu poziomu istotności statystycznej, wartości P.

Większość wyników jest porównywana z kontrolą K2. Wydaje się, że warto byłoby porównywać do grupy K3 w pierwszym bloku wynikowym.

Na str. 193 czytamy: "Intoksykacja dootrzewnowa MPTP-HCL u myszy szczepu C57BL/6 była związana z obserwowanym ogólnym spadkiem poziomu ekspresji mRNA dla TH w obrębie wszystkich ocenianych struktur neuroanatomicznych wśród grup kontrolnych (K2/K3)". Nie widać tego na wykresie szczególnie w CM. Podobnie interpretacje widnieją w wielu innych opisach wyników.



Na stronie 195 czytamy: “Wykonanie domózgowego stereotaktycznego podania Atsttrin do ST w dawce 0.125 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (P2) u zwierząt poddanych intoksykacji MPTP-HCL było związane z istotnym statystycznie ($p=0.0481$) wzrostem poziomu stężenia DA w obrębie ST w porównaniu do grupy kontrolnej (K2)”. Doktorant zapewne miał na myśli spadek stężenia DA uwidoczniiony na wykresie. Poprawia swój błąd w dyskusji na str. 335.

Podobny błąd interpretacyjny uwidoczniiony jest na stronie 205 : ”Wykonanie domózgowego stereotaktycznego podania Atsttrin do ST w dawce 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (P4) u zwierząt poddanych intoksykacji MPTP-HCL było związane z istotnym statystycznie ($p=0.0087$) wzrostem poziomu obrotów 3-MT/DA w obrębie CX w porównaniu do grupy kontrolnej (K2)”. Na wykresie widać ewidentny spadek w grupie P4.

Na str 219 czytamy: “Intoksykacja dootrzewnowa MPTP-HCL u myszy szczepu C57BL/6 była związana z obserwowanym ogólnym wzrostem poziomu obrotów 5-HIAA/5-HT w obrębie większości ocenianych struktur neuroanatomicznych wśród grup kontrolnych (K2/K3).” Nie widać tego na wykresie wynikowym i nie jest podana wartość P.

Na stronie 221 brakuje opisu istotnego statystycznie spadku stężenia GLU w CX dla grup P1 i P2 vs. K3.

Dyskusja jest prowadzona w sposób logiczny i ostrożny opierając się na wynikach uzyskanych w toku prac. Zdecydowanie podzieliłbym dyskusję na podrozdziały dotyczące poszczególnych celów pracy koncentrując się na szczegółowej interpretacji danych. Na stronie 328 odnosi się wrażenie czytania pracy przeglądowej - ten opis powinien znaleźć się ewentualnie we wstępie rozprawy.

Na str. 331 czytamy: “Istotna w tym przypadku była obserwowana tendencja spadku poziomu ekspresji TNF- α po podaniu Atsttrin, która była najbardziej prominentna w obrębie ST, jak również pozostałych strukturach neuroanatomicznych po zastosowaniu dwóch najmniejszych dawek takich jak 0.1 μg (0.025 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) oraz 0.5 μg (0.125 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). “

Jedynym oznaczonym na wykresie istotnym statystycznie wynikiem była redukcja TNF- α w hipokampie (CA) w grupie P1 (str.174; ryc.13).



Na stronie 332 dyskusji możemy przeczytać: *“Analogicznych obserwacji dokonano w odniesieniu do ekspresji nNOS, gdzie nie wykazano jednoznacznej istotności statystycznej, jednak ważna w tym przypadku była tendencja do spadku poziomu ekspresji tego enzymu po zastosowaniu coraz większej dawki związku”* - jednak na str.186 (ryc.19) dawko-zależnej tendencji nie widać na wykresie.

Natomiast na str. 334 czytamy: *“Analizując profil stężeń monoamin w trakcie pierwszej, wstępnej części badania należy zauważyć, iż dootrzewnowa intoksykacja MPTP-HCL u myszy szczepu C57BL/6 była związana z obserwowanym ogólnym średnim spadkiem poziomu stężenia DA w obrębie wszystkich ocenianych struktur neuroanatomicznych wśród grup kontrolnych.”* Jak uwidocznione jest na ryc. 24 str. 196 - spadek stężenia DA występował w ST i CA, oraz w grupie K3 w CM - a nie jak doktorant stwierdza: *“w obrębie wszystkich ocenianych struktur neuroanatomicznych”*. Podobnie, nieprecyzyjne stwierdzenia znajdują się na stronie 335, 336.

Na stronie 343 czytamy: *“Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane w trakcie drugiej części badania przeprowadzonej celem oceny eksperymentalnego wpływu bilateralnego domózgowego podania empirycznie wyznaczonej dawki Atsttrin do struktur ST oraz SN za pomocą metod stereotaktycznych w doświadczalnym modelu choroby stwierdzono, iż zastosowanie Atsttrin w dawce 0.5 µg (0.125 µg/µl) wiązało się z istotnym statystycznie obniżeniem tego enzymu w obrębie ST”*. Jeżeli to stwierdzenie dotyczyło IL-6 to nie powinno w tym miejscu być mowy o enzymie.

Na stronie 345 czytamy: *“Celem ustalenia punktu odniesienia dla oceny profilu ekspresji IL-10 w trakcie drugiej, właściwej części badania użyto tych samych grup kontrolnych, u których jak opisano wcześniej, dootrzewnowa intoksykacja MPTP-HCL u myszy szczepu C57BL/6 była związana z obserwowanym ogólnym średnim wzrostem poziomu ekspresji mRNA dla IL-10 w obrębie większości ocenianych struktur neuroanatomicznych”*. Poziom IL-10 był oceniany tylko w ST, co uwidocznione jest na str. 178 i 245.

Na str. 351: *“Analizując profil stężeń monoamin w trakcie drugiej, właściwej części badania celem oceny eksperymentalnego wpływu bilateralnego domózgowego podania empirycznie wyznaczonej dawki Atsttrin do ST oraz SN za pomocą metod stereotaktycznych w doświadczalnym modelu choroby stwierdzono, iż w przypadku poziomu stężenia DA*

zastosowanie Atsttrin w dawce 0.5 μg (0.125 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) wiązało się z istotnym statystycznie, odwrotnym do oczekiwanego spadkiem poziomu stężenia tego neuroprzekaznika w obrębie ST oraz SN". W SN Doktorant nie badał stężenia DA.

Na stronie 355 czytamy: *"Wykonanie bilateralnego domózgowego podania Atsttrin w dawce 0.5 μg (0.125 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) do struktur ST lub SN za pomocą metod stereotaktycznych u myszy szczepu C57BL/6 niepoddanych jakiegokolwiek innej procedurze eksperymentalnej było związane ze wzrostem wartości poziomu stężenia 5-HT oraz obrotów 5-HIAA/5-HT w obrębie większości ocenianych struktur neuroanatomicznych". W przypadku obrotów 5-HIAA/5-HT zgodzę się. Jednak Doktorant prawdopodobnie w tym miejscu pomylił 5-HT z 5-HIAA.*

Podsumowanie

W rozprawie przeprowadzono w sposób właściwy analizę źródeł, głównie literatury światowej. Pan lek. Łukasz Adrian Poniąowski wykazał umiejętność poprawnego przedstawiania wyników i ich interpretacji. Doktorant ma szeroką wiedzę neurobiologiczną oraz medyczną i formułował wnioski w sposób jasny, dojrzały i przekonujący. Mimo wykazanych drobnych błędów, dyskusja jest przeprowadzona rzetelnie i przejrzysto.

Podsumowując, uważam, iż praca doktorska Pana lek. Łukasza Adriana Poniąowskiego stanowi wartościową rozprawę, sumiennie wykonaną, opracowaną i napisaną. Rozprawa doktorska wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana lek. Łukasza Adriana Poniąowskiego spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, tekst jednolity: Dz.U. z 2021 r. poz. 478.



Podpis jest prawidłowy

Dokument podpisany przez
Adam Hamed
Data: 2024.10.07 19:26:55
CEST