KATEDRA i I KLINIKA ANESTEZJOLOGII I INTENSYWNEJ TERAPII UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO W LUBLINIE

SPSK NR 4, ul. Jaczewskiego 8, 20-090 LUBLIN,
Tel. (0-48)- 81-724-43-32 **Fax** (0-48)- 81-724-45-50 **E-mail** anest@umlub.pl

Lublin 2018-09-17

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Eweliny Bratek pt. „Neuroprotekcyjne działanie LY379268 – agonisty receptorów metabotropowych grupy II (mGluR2/3) - w doświadczalnym modelu asfiksji okołoporodowej".

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pt. „Neuroprotekcyjne działanie LY379268 – agonisty receptorów metabotropowych grupy II (mGluR2/3) – w doświadczalnym modelu asfiksji okołoporodowej", jest niezwykle interesującą analizą neuroprotekcyjnego działania agonisty receptora glutaminianu – (-)-2-oksa-4-aminobicyklo[3.1.0]heksano-4,6dikarboksylanu określanego skrótem LY379268. Dysertacja napisana jest w sposób typowy dla tego rodzaju prac, w zwięzły i dobrze zrozumiały sposób oraz z zachowanym układem rozdziałów. Analiza danych poparta jest 1 tabelą przedstawiającą podział zwierząt na grupy badawcze oraz 19 rycinami, wśród których znajduje się zarówno graficzne przedstawienie wyników badań, jak i zdjęcia z analiz mikroskopowych. Dysertacja poparta jest 253 pozycjami piśmiennictwa, w większości zagranicznego.

Swoją rozprawę Pani magister inżynier Ewelina Bratek rozpoczęła zwięzłym wstępem przedstawiając przyczyny oraz skutki niedokrwienno-niedotleniowego uszkodzenia mózgu. We wstępie Doktorantka podkreśla istotny problem encefalopatii niedotlenieniowo-niedokrwiennej w praktyce klinicznej skupiając się głównie na zmianach zachodzących w uszkodzonej komórce. W rozdziale tym omawia zarówno zaburzenia w równowadze jonowej i energetycznej komórki jak również ogólne aspekty jej uszkodzenia oraz zmiany aktywności ogólnie znanych enzymów antyoksydacyjnych, takich jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), peroksydaza glutationowa (GPx) oraz katalaza (CAT). Doktorantka przedstawia po krótce mechanizm działania wszystkich wymienionych enzymów wskazując ich rolę w powstawianiu zredukowanego glutationu (GSH), którego niedobór koreluje z

nasileniem stresu oksydacyjnego. W kolejnym podrozdziale Doktorantka pokrótce omawia mechanizmy apoptozy oraz enzymów biorących udział w samounicestwieniu się komórki przechodząc płynnie do głównego problemu badań, jakim była neuroprotekcyjna rola agonistów metabotropowych receptorów dla glutaminianu. Doktorantka kończy wstęp krótką charakterystyką stosowanego w badaniach związku charakteryzując jego działanie chroniące komórki nerwowe przed ekscytotoksycznością związaną z nadmiernym pobudzeniem receptora NMDA oraz stymulacją czynników neurotroficznych. Podkreśla przy tym znaczącą rolę ochronną LY379268 przed deprywacją glukozowo-tlenową nie wspominając jednak o istotnej zależności pomiędzy agonistami receptorów metabotropowych grupy II a insulino-zależnym czynnikiem wzrostu. Czynnik ten odgrywa istotną rolę w metabolizmie komórki nerwowej (o czym wspomina Doktorantka), jak również w rozwoju wielu neurodegeneracyjnych chorób oraz patologii wynikającej z niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego.

Oceniając pierwsze rozdziały wstępu trudno nie zauważyć dużej znajomości tematu przez Doktorantkę. Wszystkie podrozdziały wstępu są napisane poprawnie i nie budzą moich uwag zarówno pod względem językowym jak i merytorycznym.

Kolejnym rozdziałem dysertacji jest: Założenie i cel pracy. Rozdział ten jest napisany w sposób przejrzysty. W mojej opinii Doktorantka powinna jednak wyodrębnić stawianą przez siebie hipotezę od celu pracy, jako odrębny podrozdział. Przedstawianie hipotezy łącznie z celem pracy jest często stosowane przez wielu autorów i nie należy tego traktować jako błąd.

Rozdział „Materiał i metody" jest dobrze napisany i nie budzi moich większych zastrzeżeń. Doktorantka rozpoczyna ten fragment dysertacji informacją o uzyskanej zgodzie komisji etycznej, co jest wymagane przy tego rodzaju pracach. Charakteryzując zwierzęta eksperymentalne Doktorantka powinna jednak zaznaczyć skład pożywienia zwierząt ze szczególnym uwzględnienie zawartości w paszy substancji o działaniu neuroprotekcyjnym. Przedstawiony w tym rozdziale podział zwierząt oraz protokół badania są czytelne i nie budzą moich uwag. Czytając rozdział „Materiał i metody" nie bardzo jednak rozumiem stwierdzenia, że „oseski były karmione przez matkę do 21 dnia życia" przy czym ocenę uszkodzenia mózgu na podstawie stosunku masy półkul mózgowych oceniano 14 dni po eksperymentalnym wywołaniu niedokrwienia/niedotlenienia mózgu – czyli po 21 dniach od urodzenia, zaś ocenę histopatologiczną wykonywano po 14 dniach od urodzenia, a ocena wielkości obszaru martwicy była wykonana u 12 dniowych zwierząt. Niejasności te wymagają wyjaśnienia oraz określenia liczebności badanych grup.

Rozdział Wyniki ma typowy układ dla tego typu prac i omawia kolejno wyniki wszystkich wykonanych eksperymentów. Moje zastrzeżenia dotyczą jednak podanej liczebności grup. Doktorantka podaje w podpisie ryc. 5, 6 i późniejszych, liczbę zwierząt 6 – 8 nie precyzując w której grupie było 6 a w której 8. To niewielkie niedociągnięcie powinno zostać uwzględnione w przygotowaniu wyników do późniejszych publikacji.

Rozdział „Dyskusja" jest prawidłowo napisany i szeroko omawia uzyskane przez Doktorantkę wyniki w aspekcie dostępnych danych piśmiennictwa podkreślając przy tym odmienność badań własnych. W mojej opinii część wyników wymaga jednak dokładniejszego omówienia. W pierwszej części Dyskusji Doktorantka omawia neuroprotekcyjna rolę agonistów mGluR2/3 w modelu encefalopatii niedotleniowo-niedokrwiennej podsumowując w jednym zdaniu neuroprotekcyjny mechanizm działania LY379268. Należałoby jednak krótko omówić interakcje pomiędzy badanym związkiem a kinaza tyrozynową, fosforylazą C, kanałami jonowymi czy też receptorem NMDA. Ciekawą mogłaby być także spekulacja nad efektem działania anestetyków wziewnych stosowanych przez Doktorantkę w trakcie badań a użytym agonistą. Wiele prac podkreśla bowiem neurotoksyczne działanie anestetyków wziewnych w rozwijającym się ośrodkowy układ nerwowy. Niewiele jednak prac dokumentuje wpływ anestetyków wziewnych na metabotropowe receptory grupy II (mGluR2/3).

W kolejnych podrozdziałach Dyskusji Doktorantka omawia zakres uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego oraz zmiany aktywności wybranych enzymów stresu oksydacyjnego po podaniu LY379268. Doktorantka podkreśla przy tym nowatorski charakter swoich badań. W mojej opinii warto byłoby krótko porównać działanie LY379268 na stopień stresu oksydacyjnego, nasilenie apoptozy jak również poziom czynników neurotroficznych w innych, niż omawiana, chorobach ośrodkowego układu nerwowego, gdyż mechanizm działania badanego związku w tych przypadkach jest podobny do obserwowanego w badaniach Doktorantki.

Dysertacja jest zakończona rozdziałem „Wnioski", co jest typowe dla tego rodzaju prac. Wysunięte przez Doktorantkę wnioski są zwięzłe i odpowiadają postawionym celom badań.

Streszczenie, które rozpoczyna przedstawioną mi do oceny dysertację, jest syntetycznym opisem prowadzonych przez Doktorantkę badań i jest jedną z najważniejszych części pracy. Ma bowiem na celu zachęcenie czytelnika do przeczytania danej pracy. Jego konstrukcja jest bardzo skrótowym omówieniem tematu badań z zachowaniem poszczególnych rozdziałów:

wstęp, metody, wyniki oraz wnioski. Doktorantka nie wyodrębniła tych rozdziałów w streszczeniu.

Przedstawioną mi do oceny dysertację kończy spis piśmiennictwa w liczbie 253, usystematyzowanego alfabetycznie. Znacząca liczbę pozycji stanowią jednak prace starsze niż 10 lat od momentu opublikowania dysertacji. Pozycje piśmiennictwa nie są jednak ułożone w określonej, przyjętej przez Doktorantkę formie. Pozycje 1, 7, 13, 81, 121, 139, 140, 182, 186, 188, 190, 193, 194, 227, 230, 231, 235, 238, 242, 243, 248 są ułożone w formie autorzy, rok wydania, tytuł pracy czasopismo, numer wydania oraz numery stron podczas gdy kolejne są ułożone w formie: autor/autorzy, rok opublikowania, tytuł pracy, czasopismo, numer oraz strony. W wielu przypadkach Doktorantka stosuj również nawiasy określając rok wydania czasopisma, w innych używa niejednolitych znaków interpunkcyjnych. Brak jest także jednakowych znaków interpunkcyjnych po tytule/skrócie tytułu czasopisma. Niedociągnięcia te powinny być usunięte w trakcie przygotowywania publikacji, bowiem odmienna forma cytowania piśmiennictwa jest postrzegana przez redakcje wielu czasopism.

Podsumowując: przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani magister inżynier Eweliny Bratek pt. „Neuroprotekcyjne działanie LY379268 – agonisty receptorów metabotropowych grupy II (mGluR2/3) – w doświadczalnym modelu asfiksji okołoporodowej", jest bardzo ciekawą dysertacją poruszającą niezwykle ważny i trudny temat oraz wnosząca spory wkład w zakres nauk o zdrowiu. Całość pracy oceniam bardzo wysoko. Rozprawa ta pomimo niedociągnięć jest napisana prawidłowo z zachowanym układem charakterystycznym dla tego rodzaju dysertacji i spełnia wszystkie warunki określone w art. 31 ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym zwracam się z uprzejmą prośbą do Wysokiej Rady o dopuszczenie dysertacji Pani magister inżynier Eweliny Bratek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami Szacunku

Kierownik Katedry i I Kliniki
Anestezjologii i Intensywnej Terapii UM w Lublinie

KIEROWNIK
Katedry Anestezjologii i Intensywnej Terapii
z Klinicznym Oddziałem Dziecięcym
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Dr hab. n. med. Wojciech Dąbrowski

dr hab. n. med. Wojciech Dąbrowski