



Dr hab. Ewa Słomińska  
Katedra i Zakład Biochemii  
eslom@gumed.edu.pl

Gdańsk, 2018.09.10

**Komisja ds. Studiów Doktoranckich  
i Doktorantów Rady Naukowej  
Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej  
im. Mirosława Mossakowskiego  
PAN**

**Recenzja**

rozprawy doktorskiej **mgr inż. Mariusza Popka** pt. „Udział transportera glutaminy SN1 w powstawaniu obrzęku mózgu i zaburzeń w neuroprzekaznictwie glutamatergicznym: rola w zmianach obserwowanych w ostrej encefalopatii wątrobowej”

Temat przesłanej do oceny rozprawy doktorskiej jest aktualny i ważny ze względów poznawczych. Dotyczy bowiem roli transportera SN1 w neurotransmisji glutaminergicznej, obrzęku kory czołowej w ostrej encefalopatii wątrobowej. Jest to zagadnienie niezmiernie aktualne w związku zainteresowaniem i licznymi doniesieniami dotyczącymi patomechanizmu encefalopatii wątrobowej. Nie jest on jednak nadal w pełni poznany. Uważa się, że za rozwój tego zaburzenia oprócz wysokiego stężenia amoniaku odpowiada również stres oksydacyjny czy obecność cytokin prozapalnych. W organizmie, przy niesfunkcjonującym cyklu moczniowym proces detoksykacji amoniaku przebiega głównie drogą syntezy glutaminy. Ma to szczególne znaczenie w ośrodkowym układzie nerwowym, gdzie między innymi prawidłowy transport glutaminy i glutaminianu między astrocytami i neuronami jest konieczny dla prawidłowego procesu syntezy GABA i neurotransmisji.

Zaobserwowano, że zmiany aktywności i funkcji transporterów glutaminy i glutaminianu w błonie komórkowej astrocytów przyczyniają się do upośledzenia transmisji glutaminergicznej i jednocześnie powstawania obrzęku mózgu, dwóch głównych objawów obserwowanych w rozwoju ostrej encefalopatii wątrobowej.



Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma typowy układ, zawiera *Spis treści, Wykaz skrótów, Wstęp, Cele naukowe pracy, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusję, Podsumowanie wyników i wnioski, Streszczenie, Bibliografię*.

*Wstęp* obejmujące 27 stron. Przedstawiono w nim wyczerpujące kompendium wiedzy o encefalopatii wątrobowej, jej typach, objawach klinicznych postaci ostrej, diagnostyce i leczeniu. Przedstawiono także wyczerpujący stan wiedzy na temat udziału stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego i innych czynników (np. benzodiazepin, kwasów żółciowych) w rozwoju ostrej encefalopatii wątrobowej. Opisano rolę amoniaku w patomechanizmie badanej jednostki chorobowej, w tym toksyczność amoniaku dla ośrodkowego układu nerwowego z rozgraniczeniem jego wpływu na astrocyty, komórki śródbłonna, neurony. Przy rozważaniu cytotoxyczności amoniaku zabrakło mi przemiany katalizowanej przez dehydrogenazę glutaminianową i związanym z jej aktywnością „zużywaniem” alfa-ketoglutaranu i tym samym zaburzenie cyklu Krebsa. Czy ten proces nie jest istotny w mechanizmie toksyczności amoniaku w ośrodkowym układzie nerwowym?

Postawiona hipoteza badawcza oraz cele są sformułowane w sposób prawidłowy.

Biorąc pod uwagę metodykę pracy, to Doktorant zastosował wiele złożonych i nowoczesnych technik badawczych zarówno z zakresu biologii molekularnej, metod radioizotopowych, spektroskopii, elektrofizjologii, mikroskopii konfokalnej i elektronowej, metod analizujących behavior zwierząt, mikrodializy, czy wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Opis metodyczny jest wyczerpujący i poprawny. Na uwagę zasługuje fakt, że hipoteza badawcza była weryfikowana na dwóch modelach badawczych: 1) modelu, w którym ostrą niewydolność wątroby wywoływano przez jednorazowe, dootrzewnowe podanie azoksymetanu i 2) modelu, w którym za pomocą pompy osmotycznej podano oligonukleotydy o sekwencji selektywnie wyciszającej białko SN1.

Wyniki badań, zarówno ryciny jak i ich opis są przedstawione poprawnie i czytelnie. Sposób przeprowadzenia doświadczeń jest poprawny i nie nasuwa uwag krytycznych. Nasuwa się jednak kilka pytań i spostrzeżeń:

- str.69 – w jaki sposób za pomocą protonowej spektroskopii rezonansu magnetycznego określono stężenia metabolitów w mózgu? czy badania były wykonywane na żywym zwierzęciu? – brakuje opisu procedury
- str. 70 – czy statystycznie znamienne obniżenie stężenia alaniny w korze czołowej myszy AOM można wytłumaczyć jedynie zwiększonym zużyciem (?) lub zahamowaniem syntezy ATP. Dlaczego takiej różnicy nie obserwuje się w modelu wyciszenia?



- dlaczego w modelu AOM wykonano między innymi badania parametrów postsynaptycznych prądów pobudzających w neuronach piramidowych w skrawkach korowych, a w modelu wyciszenia w warstwie II/III i V. Dlaczego w obu modelach badawczych nie zastosowano takiego samego układu?

Z analizy publikacji załączonych na początku rozprawy doktorskiej wynika, że duża część uzyskanych przez Doktoranta wyników została już opublikowana i to w prestiżowych czasopismach (*Mol Neurobiol*; *Neurochem Int*). W ocenie recenzenta jest to duże osiągnięcie doktoranta i powinno być podkreślone i wyraźnie zaznaczone przy prezentowanych wynikach.

Równocześnie z przedstawionymi rezultatami badań przeprowadzona jest dyskusja wyników. Jest ona ciekawa i dobrze napisana. Oceniając dyskusję mogę stwierdzić, że otrzymane wyniki zostały przez Doktoranta dobrze przedyskutowane i skonfrontowane z danymi z piśmiennictwa, a ich interpretacja jest wnikliwa i ostrożna. Świadczy to o dobrej znajomości poruszanej w pracy problematyki oraz dobrej znajomości piśmiennictwa w zakresie prowadzonych badań.

Na zakończenie zostały przedstawione najważniejsze wnioski z uzyskanych wyników. Wnioski są prawidłowo sformułowane i w pełni udokumentowane wynikami przeprowadzonych doświadczeń. Wynika z nich, że transporter glutaminy SN1 odgrywa istotną rolę w powstawaniu zmian w parametrach elektrofizjologicznych charakteryzujących neurotransmisję glutaminergiczną oraz obrzęku mózgu o charakterze cytotoksycznym w modelu ostrej encefalopatii wątrobowej. Badania potwierdziły, że postawiona hipoteza była słuszna.

Na zakończenie chciałabym zwrócić uwagę na stosowanie poprawnych określeń, i tak:

- na str. 44 jest określenie „... przeprowadzono handling” – nie jest polskim określeniem
- autor rozprawy w wielu miejscach używa sformułowania „neuroprzeżyźnienie glutamatergiczne” (nawet w tytule rozprawy) – czy po polsku nie powinno brzmieć „neuroprzeżyźnienie glutaminergiczne”

Niemniej jednak te drobne niedociągnięcia nie umniejszają wartości uzyskanych interesujących wyników dotyczących roli transportera glutaminy SN1 w patomechanizmie encefalopatii wątrobowej.

Kończąc jeszcze raz chciałabym podkreślić doskonały warsztat doświadczalny Doktoranta, co jest szczególnie wartościowe i unikalne na tym etapie rozwoju naukowego.



W podsumowaniu stwierdzam, że mgr inż. Mariusz Poppek jest w pełni ukształtowanym pracownikiem naukowym, posługującym się wieloma technikami badawczymi, zdolnym do rozwiązywania skomplikowanych problemów. Jego rozprawa doktorska ma charakter oryginalnej, bardzo dobrej pracy doświadczalnej spełniającej wszelkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim. Dlatego też zwracam się do Komisji ds. Studiów Doktoranckich i Doktorantów Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN o dopuszczenie mgr inż. Mariusza Popka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN z wnioskiem ( w załączeniu) o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Mariusza Popka.

Z poważaniem

Dr hab. n. med. Ewa Słomińska