



Kraków 06.09.2018r

Ocena

Rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Mariusza Popka, doktoranta Zakładu Neurotoksykologii Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN w Warszawie pt.: **Udział transportera glutaminy SN1 w powstawaniu obrzęku mózgu i zaburzeń w neuroprzeźnaczności glutamatergicznej: rola w zmianach obserwowanych w ostrej encefalopatii wątrobowej.**

Encefalopatia wątrobowa jest najczęściej spotykanym zaburzeniem metabolicznym w przebiegu którego obserwuje się podwyższone stężenie amoniaku w surowicy krwi. Neurotoksyczne działanie amoniaku jest związane ze zmianami w neuroprzeźnaczności glutaminergiczną i wiąże się z nadmierną produkcją glutaminy (Gln) w astrocytach. Gromadzenie się Gln w komórkach astrocytarnych powoduje wystąpienie nierównowagi osmotycznej i powstawanie cytotoksycznej składowej obrzęku mózgu. Sugeruje się, że przyczyną gromadzenia się Gln w astrocytach w przebiegu ostrej encefalopatii wątrobowej jest zwiększone magazynowanie tego aminokwasu w komórce w wyniku zaburzonego transportu na zewnątrz komórki. Najważniejszym białkiem regulującym transport Gln z astrocytów jest SN1.

Biorąc pod uwagę przedstawione powyżej dane z literatury przedmiotu, wybór celu rozprawy: wykazanie udziału transportera glutaminy SN1 w powstawaniu obrzęku mózgu i zaburzeń w neuroprzeźnaczności glutamatergicznej, dwóch klinicznie najpoważniejszych objawów encefalopatii wątrobowej, jest jak najbardziej uzasadniony.

Przedstawiona do oceny praca obejmuje 150 stron, 22 rycin, 12 tabel. Posiada następujący układ edytorski: Wykaz skrótów (3 strony), Wstęp (27 stron), Hipoteza i cele pracy (1 strona), Materiały i metody (15 stron), Wyniki (34 strony), Dyskusja (17 stron), Podsumowanie wyników i wnioski (2 strony), Streszczenie w języku polskim i angielskim (8 stron), Innowacyjność rozprawy doktorskiej (1 strona), Wykaz tabel i rycin (4 strony) oraz Piśmiennictwo (288 pozycji).



Celem uniknięcia powtarzania informacji zawartych w rozprawie, które Doktorant z pewnością przedstawi w trakcie obrony moja recenzja skupi się tylko na pozytywnych oraz negatywnych aspektach rozprawy.

Na uwagę zasługuje bardzo precyzyjnie opracowany wstęp, w którym Doktorant szczegółowo przedstawił zarówno wiadomości ogólne dotyczące występowania encefalopatii wątrobowej jak i charakterystykę kluczowych objawów klinicznych oraz diagnostykę i formy jej leczenia. Kolejno Doktorant opisał patomechanizm objawów klinicznych ostrej encefalopatii wątrobowej z uwzględnieniem roli amoniaku, glutaminy oraz nierównowagi pomiędzy neurotransmisją pobudzającą i hamującą w centralnym systemie nerwowym. Sposób przedstawiania dostępnych danych z literatury przedmiotu świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktoranta.

Zaplanowaną hipotezę doktoratu zweryfikowano badając występowanie cytotoksycznej i naczyniopochodnej składowej obrzęku mózgu oraz zmian w parametrach elektrofizjologicznych w korze czołowej myszy poddanych procedurze azoksymetanowego modelu ostrej encefalopatii wątrobowej. Ponadto zbadano czy wyciszenie transportera glutaminy SN1 u zdrowych zwierząt odtworzy zmiany elektrofizjologiczne oraz wywoła obrzęk kory czołowej o charakterze cytotoksycznym obserwowane w modelu ostrej encefalopatii wątrobowej. W tym miejscu należy zwrócić uwagę na różnorodność i nowoczesność wykorzystanych przez Doktoranta metod badawczych (biologii molekularnej, radioizotopowych, spektroskopii, elektrofizjologii, mikroskopii elektronowej i konfokalnej, mikrodializy, metod analizujących zachowanie zwierząt) jak również wieloaspektowość badań zaplanowanych do realizacji założonych celów. Wykonanie doświadczeń i opracowanie wyników nie budzi zastrzeżeń.

Bardzo pozytywnie oceniam rozdział 5 i 6 rozprawy (Dyskusja, podsumowanie wyników i wnioski). Doktorant trafnie dobrał najistotniejsze osiągnięcia własne i umiejętnie skonfrontował je z danymi dostępnymi w literaturze przedmiotu. Dyskusja jest zwięzła i bardzo merytoryczna i wskazuje na duże umiejętności analityczne Doktoranta i łatwość w przedstawianiu własnych przemyśleń. Wnioski zostały poprawnie sformułowane i bardzo przejrzysto zestawione w postaci graficznej.



Z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia i drobne błędy redakcyjne:

- a) W rozdziale 3.2. 4) Ocena stanu neurologicznego, podano liczbę wykorzystanych w doświadczeniu zwierząt (n=12). Ze względu na fakt, że ten rozdział zawiera ogólne informacje dotyczące samej metody przeprowadzania badań, wyżej wspomniane dane można by podać w opisie wyników (rozd. 4.1.2);
- b) W tekście wykorzystano skróty opisujące potencjały polowe (FP) i zjawisko długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP). Skróty te pochodzą od angielskich nazw, które nie zostały przytoczone w tekście. Skrót FP nie został również wymieniony w wykazie skrótów.
- c) Str. 70, 90, 91. Na rycinach przedstawiono analizę spektroskopową metabolitów. Na osi X podano skróty nazw badanych metabolitów. Pełne nazwy metabolitów powinny być podane w opisie legendy przynajmniej jednej z tych rycin.
- d) Str. 71. W legendzie do Ryc. 4.4.1. (C) podano opis: Reprezentatywny elektroforogram, powinno być elektroforegram.
- e) Na str. 11 podano znaczenie skrótu GAH ..."z ang. gamma-glutamyl hydroxamate"..., natomiast na stronie 72 ..."z ang. glutamate- γ -monohydroxamate"... Dla ujednoczenia tekstu warto zastosować jedną nazwę danego związku.
- f) Str. 74, 76, 90, 91. W opisie rycin wykorzystano skróty SN1 VM; KVM ale nie podano znaczenia tych skrótów w legendzie.
- g) Str. 86 i 87. W legendzie do tabel podano znamienne wartości *P>0.05 w stosunku do kontroli ale w tabelach nie zaznaczono znamienności.
- h) Str. 89. W opisie Ryc. wykorzystano skrót K VM natomiast w legendzie widnieją skróty C VM.



- i) W tekście pojawiają się literówki oraz drobne błędy gramatyczne.
- j) Na stronie 94 tekstu pojawia się stwierdzenie ..."SN1 jest ekspresjonowany w komórkach glejowych...". Takie sformułowania pojawiają się w literaturze, nie mniej jednak wydaje mi się, że należałoby zrezygnować z tego typu określeń w rozprawach pisanych w języku polskim.
- k) Kilka skrótów nie zostało ujętych w sekcji Wykaz skrótów: RNS, MRI, NADPH, FP, BD2.

Pragnę podkreślić, że przedstawione powyżej nieliczne uwagi nie mają wpływu na pozytywną ocenę pracy.

W moim przekonaniu praca pt.: „Udział transportera glutaminy SN1 w powstawaniu obrzęku mózgu i zaburzeń w neuroprzekąźnictwie glutamatergicznym: rola w zmianach obserwowanych w ostrej encefalopatii wątrobowej” w pełni odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim. Dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN w Warszawie wniosek o dopuszczenie Pana mgr inż. Mariusza Popka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zgłaszam ponadto wniosek do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Przedłożona do recenzji rozprawa prezentuje wysoki poziom merytoryczny (znaczenie tematu, złożoność zaplanowanych badań oraz szeroki zakres metod wykorzystanych do sprawdzenia założonej w pracy hipotezy). Jednym z rezultatów realizacji pracy jest opracowanie nowego modelu badawczego co znacznie zwiększa jej wartość metodyczną. Bardzo wysoko oceniam również zakres współpracy w ramach której poniższa praca została zrealizowana.

Dr hab. Bernadeta Szewczyk