UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Katedra Patofizjologii
Kierownik: prof. dr hab. Ewa Żekanowska
85-094 Bydgoszcz, ul. M. Skłodowskiej- Curie 9
e-mail: zorba@cm.umk.pl
tel. (52) 585-3477

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Justyny Brańskiej – Januszewskiej, w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne, pt.: *Ocena aktywności i stężenia proteasomów w nieswoistych zapalnych chorobach jelit u dzieci*

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana pod opieką naukową prof. dr hab. Haliny Ostrowskiej, w Zakładzie Biologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Recenzja zlecona uchwałą Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 29.06.2023r.

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego i choroba Leśniowskiego-Crohna to przewlekłe choroby zapalne jelit o bardzo złożonej etiologii, z potwierdzoną rolą czynników genetycznych, immunologicznych i środowiskowych. Wspólną cechą obu jednostek jest obecność przewlekłego procesu zapalnego, z charakterystycznym profilem cytokinowym, dla choroby Leśniowskiego-Crohna, między innymi IL-12 i TNF-alfa, dla wrzodziejącego zapalenia jelit Il-5 i Il-13. Proces diagnostyczny obejmuje szereg badań, w tym endoskopowych i laboratoryjnych, często jednak jest utrudniony, ze względu na ograniczoną dostępność wiarygodnych badań, niespecyficzność objawów i zróżnicowany przebieg kliniczny. W ostatnich dwóch dekadach zanotowano wzrastający trend zachorowalności, szczególnie w populacji wieku rozwojowego. Do kluczowych obserwacji związanych z poznaniem patomechanizmu nieswoistych chorób zapalnych jelit należą badania dokumentujące udział proteasomów w aktywacji ścieżki czynnika transkrypcyjnego NF-kB p50/p65, co otworzyło nowe możliwości diagnozowania jak i poszukiwania skuteczniejszych strategii terapeutycznych.

Cu

Z powyższych względów uważam wybrany przez **mgr Justynę Brańską - Januszewską** temat rozprawy doktorskiej za w pełni uzasadniony, szczególnie biorąc pod uwagę fakt, że badania dotyczyły populacji pediatrycznej.

Układ pracy i podział treści

Przedstawiona do recenzji praca doktorska liczy 80 stron maszynopisu. Podział treści i układ rozdziałów są typowe dla prac o charakterze badawczym, z zachowaniem prawidłowej proporcji pomiędzy poszczególnymi rozdziałami. Tytuł rozprawy jest w pełni zgodny z jej treścią. Wyniki badań własnych zebrano w tabelach (ogółem14) i na rycinach (ogółem 20). Wykaz piśmiennictwa opracowany w porządku alfabetycznym jest kompletny i obejmuje 122 pozycje. Streszczenie pracy w języku polskim i angielskim zawiera wszystkie wymagane elementy. Wykaz skrótów powinien być jednak rozszerzony (kluczowe pojęcia związane z kliniką i leczeniem). Redakcja pracy jest bardzo staranna.

Wstęp i cel pracy

Wprowadzenie teoretyczne (13 stron maszynopisu) obejmuje dwie części , na wstępie Autorka przedstawiła syntetyczną charakterystykę proteasomów, a następnie opisała etiopatogenezę nieswoistych chorób zapalnych jelit z uwzględnieniem roli aktywacji ścieżki czynnika transktypcyjnego NF-ĸB p50/p65. Zaprezentowane treści zostały oparte na przeglądzie dobrze wyselekcjonowanych publikacji, głównie oryginalnych. W relatywnie krótkim wstępie teoretycznym, znalazły się wszystkie niezbędne informacje stanowiące podstawę do sformułowania celu zadania badawczego. Doktorantka wyznaczyła sobie trzy główne cele, była to między innymi analiza porównawcza aktywności chymotrypsynopodobnej i stężenia proteasomów we krwi dzieci ze zdiagnozowana chorobą Leśniowskiego - Crohna, wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i dzieci z tzw. grupy kontrolnej, ocena wpływu fazy choroby (remisja vs. zaostrzenie) na badane parametry oraz analiza podjednostek katalitycznych odpowiedzialnych za aktywność chymotrypsynopodobną wraz z oceną ekspresji podjednostki β5i proteasomów w materiale histopatologicznym. Cele zostały precyzyjnie i jasno sformułowane.

Ai

Materiał i metodologia badań

Doktorantka przeprowadziła badania w trzech grupach dzieci: ze zdiagnozowaną chorobą Leśniowskiego-Crohna - 18 pacjentów, wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego - 69 pacjentów oraz u 24 dzieci z zaburzeniami czynnościowymi układu pokarmowego (grupa określona jako kontrolna). Widoczna jest duża dysproporcja w liczebności poszczególnych grup. Ponadto Doktorantka przeprowadziła analizę proteasomów w utrwalonym materiale histopatologicznym, jakim były bioptaty jelita grubego pochodzące od 9 pacjentów (odpowiednio po 3 próbki z każdej grupy). W tym miejscu należy podkreślić wybitnie pilotażowy charakter tej części zadania badawczego. Dobór panelu badań oraz zastosowany warsztat metodyczny, jak i ich opis są właściwe i nie budzą zastrzeżeń. W metodologii nie znalazłam jednak żadnego odniesienia do morfologii krwi obwodowej (WBC,PLT, RBC, HGB) włączonych do badania pacjentów, która była w pracy analizowana pod kątem korelacji z proteasomami. Informację taką należałoby zamieścić.

Wyniki

Rezultaty badań zostały przedstawione w formie graficznej i tabelarycznej, zgodnie z ogólnie przyjętą konwencją. Percepcję prezentowanych wyników ułatwia ich podział na kilka podrozdziałów, adekwatnych do zaplanowanych celów. Zarówno tabele jak i ryciny są czytelne, starannie wykonane, opis najważniejszych obserwacji jest klarowny i zgodny z zaprezentowanymi wynikami. Do najważniejszych obserwacji należy wykazanie znamiennie wyższej aktywności proteasomów w krążeniu systemowym u dzieci z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit, których wartości nie wykazywały zależności od rodzaju oraz aktywności choroby. Na podstawie pilotażowych badań bioptatów jelita grubego z wykorzystaniem metody immunofluorescencyjnej Doktorantka zaobserwowała wzmożoną ekspresję immunopodjednostki β5i proteasomów w komórkach jednojądrzastych blaszki błony śluzowej jelita i komórkach nabłonkowych.

Dyskusja

Autorka przeanalizowała uzyskane wyniki badań własnych i odniosła je do obserwacji innych autorów, którzy zagadnieniem proteasomów w nieswoistych chorobach zapalnych jelit zajmowali się w populacji dorosłych pacjentów, słusznie podkreślając unikatowość swoich

Au

badań, które dotyczyły dzieci, głównie nastolatków. Omówienie wyników jest poprawne, chociaż budzi w moim odczuciu pewien niedosyt. Przegląd piśmiennictwa wykorzystany w dyskusji, opiera się na pracach sprzed kilkunastu lat, zaledwie kilka pozycji to publikacje po roku 2015 (a w całym przeglądzie piśmiennictwa tylko 30 prac). Istotny wątek, a bardzo aktualny w kontekście najnowszych badań, dotyczący mikropęcherzyków komórkowych, które mogą transportować proteasomy został zamknięty w jednym kończącym dyskusję zdaniu, może warto byłoby ten wątek chociaż minimalnie rozbudować, przygotowując publikację. Uwaga recenzenta odnosi się również do braku w dyskusji jakichkolwiek odniesień dotyczących ograniczeń badań własnych, krytycznego podejścia do uzyskanych obserwacji, a z pewnością co najmniej kilka takich problemów można by po lekturze rozprawy wskazać. Pytania, które rodzą się w związku z tym dotyczą między innymi, jaki był czas trwania choroby, czy występowały choroby współistniejące, w jaki sposób leczenie (wskazano, że ponad 80 % pacjentów miało włączone leczenie) może wpływać na obserwowane zmiany w liczbie i aktywności proteasomów.

Podsumowanie

Przedstawione powyżej uwagi i pytania, które pojawiły się w trakcie lektury rozprawy są przede wszystkim wskazówkami dla Autorki, w żadnym stopniu nie obniżają zaś wartości merytorycznej doktoratu.

Podsumowując, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że cel pracy został w pełni zrealizowany, Autorce udało się przeprowadzić nowatorskie badania obejmujące populację wieku rozwojowego, co jest z pewnością istotnym atutem niniejszej dysertacji. Praca spełnia wszystkie warunki, jakim winna odpowiadać rozprawa doktorska w świetle aktualnie obowiązujących przepisów. Doktorantka dowiodła umiejętności samodzielnego zaplanowania i realizacji podjętego problemu badawczego.

Na tej podstawie mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z wnioskiem o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Justyny Brańskiej – Januszewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Katedry Patofizjologii
prof. dr hab. Ewa Żekanowska