

OCENA

Rozprawy doktorskiej mgr Justyny Bączek pt.: Insulinopodobne czynniki wzrostowe w płynie stawowym i surowicy w przebiegu uszkodzenia stawu kolanowego o różnej etiologii.

Zespół przedwczesnego zużywania chrząstki stawowej jest znamieny dla współczesnych czasów. Obecnie dotyczy on nie tylko osób starszych, ale także młodych. Jedną z głównych przyczyn degeneracji chrząstki stawowej są sumujące się przeciążenia i mikrourazy. Do rozwoju w/w zespołu przyczynia się w sposób istotny, cechująca obecne społeczeństwo, otyłość oraz mało aktywny tryb życia, a wśród sportowców – silna eksploatacja narządu ruchu. Często przyczyną postępującego uszkodzenia warstwy chrzęstnej jest niestabilność stawu wynikająca z uszkodzenia więzadeł lub brak łąkotki. Uszkodzenie takie powinno być rozpoznane i leczone zanim dojdzie do powstania rozległej zmiany zwyrodnieniowej. Często nie zostaje w porę zdiagnozowane, co przyczynia się do pogłębienia degradacji. Postępujące uszkodzenie związane jest z utratą integralności składników macierzy pozakomórkowej i w znacznym stopniu zależy od zaburzenia homeostazy pomiędzy procesami anabolicznymi i katabolicznymi. Z uwagi na aktywność biologiczną, można założyć, że peptydowe czynniki wzrostu mogą odgrywać istotną rolę w metabolizmie chrząstki polegającą na przeciwdziałaniu zmianom destrukcyjnym tej tkanki podczas progresji zespołu zużywania chrząstki stawowej oraz uczestniczeniu w przebudowie chrząstki i jej włóknieniu.

Z uwagi na powyższe fakty istotne staje się poznanie roli IGF w procesie przebudowy chrząstki stawowej w przebiegu chorób, którym towarzyszy degeneracja tej tkanki. Prowadzić to może do opracowania czułych metod diagnostycznych, szczególnie we wczesnych stanach zużycia chrząstki stawowej.

Z uwagi na ważkość problemu uważam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi cenny element w badaniach nad opracowaniem czułych metod oznaczeń insulinopodobnych czynników wzrostowych, służących wczesnej ocenie zaburzeń metabolicznych prowadzących do rozwoju uszkodzeń tkanki chrzęstnej, jak również poznania roli tych czynników w procesach przebudowy chrząstki stawowej.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska obejmuje 81 stron tekstu podzielonego prawidłowo na rozdziały: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki i ich omówienie, dyskusję, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo. Autorka zamieściła także na początku pracy wykaz skrótów używanych w tekście rozprawy. Nie umieściła spisu rycin i tabel. Autorka prawidłowo powołuje się w pracy na 113 aktualnych pozycji piśmiennictwa, z czego 38% stanowią pozycje z ostatnich 5 lat.

Rozprawa została napisana bardzo starannie oraz poprawnie pod względem formalnym, językowym, stylistycznym i interpunkcyjnym.

We wstępie obejmującym 21 stron Autorka w sposób przejrzysty i rzeczowy zdefiniowała macierz pozakomórkową, tkankę chrzęstną, metabolizm tkanki szklistej oraz charakterystykę chorób zwyrodnieniowych stawów ze szczególnym uwzględnieniem stanów chorobowych stanowiących podwaliny prezentowanej rozprawy. W sposób bardzo szczegółowy przedstawiła także informacje nt. peptydowych czynników wzrostu, ich roli i zaangażowaniu w homeostazę tkanki chrzęstnej. Wstęp stanowi dobrą podwalinę dalszej części rozprawy doktorskiej.

Założenia badawcze przedstawione w rozdziale cel pracy zostały sformułowane poprawnie. Za nadrzędny cel Autorka przyjęła poznanie roli IGF w przebudowie chrząstki stawowej. Jako cele podrzędne Autorka postawiła oznaczenie z użyciem technik elektroforezy, zymografii oraz *Western Immunoblot* i ELISA aktywności kolagenolityczną/żelatynolityczną surowicy i płynu stawowego oraz pomiaru zawartości insulinopodobnych czynników wzrostowych i białek wiążących (IGF-I, IGF-II, białka wiążące IGFBP-1 i IGFBP-3). Autorka uzyskała na badania zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, jednak nie podała numeru zgody.

Materiał do badań stanowił płyn stawowy, pozyskany podczas punkcji wykonywanej z powodu uszkodzeń więzadłowo-łokotkowych stawu kolanowego oraz surowice krwi pacjentów. Badania przeprowadzono na materiale biologicznym pochodzącym od 70-ciu pacjentów, z uwzględnieniem rodzaju patologii (pourazowe zapalenie stawu kolanowego, młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, reumatoidalne zapalenie stawów, borelioza, choroba zwyrodnieniowa stawów) i wieku osób zakwalifikowanych do badań.

Analiza statystyczna służąca weryfikacji uzyskanych wyników została wykonana poprawnie. Autorka informuje jednak, że badania wykonane techniką zymografii i *Western Immunoblot* powtarzała wielokrotnie, sugerując podanie konkretnej liczby powtórzeń danego oznaczenia.

Przedłożony w rozprawie eksperyment został poprawnie zaplanowany, a przeprowadzenie badań wymagało wykorzystania technik opartych na metodach *Western Immunoblot* (obecność IGF-I, II, białek wiążących IGFBP-1 i 3) immunoenzymatycznej ELISA (IGF-I) oraz zymografii (badanie aktywności kolageno- i żelatynolitycznej). Zastosowane metody badawcze są w pełni dopracowane i poprawne analitycznie.

Celem oznaczenia zawartości peptydowego czynnika wzrostu IGF-I wykorzystano rutynowo dostępne testy ELISA – zestaw Quantikine Human IGF-I Immunoassay. Procedura nie budzi zastrzeżeń, nie podano jedynie czułości i nieprecyzyjności metod, co należy uwzględnić przy przygotowywaniu publikacji do druku.

W pracy brakuje kryteriów włączenia i wyłączenia pacjentów do badań. Powinny obejmować **towarzyszące choroby oraz ewentualne leczenie farmakologiczne**, gdyż mogło to wpłynąć na uzyskane wyniki badań. Brakuje także informacji, czy pacjenci zostali poinformowani o rodzaju i celu wykonywania badań i wyrazili świadomą zgodę na udział w badaniach. Niestety, nie załączono w pracy formularza informacyjnego i zgody pacjenta, co należy uczynić przygotowując pracę do druku.

Z uwagi na trudność pozyskania płynów stawowych od osób zdrowych, celem utworzenia grupy kontrolnej, Autorka porównywała uzyskane wyniki dla pacjentów młodych (8-24 r.ż.), u których potwierdzono rozpoznanie młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów i pourazowego zapalenia stawu kolanowego oraz dla osób dorosłych (40-80 r.ż.), dla których potwierdzono reumatoidalne zapalenie stawów, boreliozę oraz chorobę zwyrodnieniową stawów.

Biorąc pod uwagę cel i wypływające z pracy wnioski, podział taki znajduje swoje uzasadnienie. Uwzględnia także, postępujące w sposób fizjologiczny z wiekiem, zużywanie chrząstki stawowej oraz postępujące potencjalne zmiany w składzie płynu stawowego.

Uzyskane wyniki zostały przedstawione w sposób przejrzysty, omówione i poddane prawidłowej analizie statystycznej. Stanowiły także solidną podwalinę do przeprowadzonej dyskusji.

W dyskusji Doktorantka dokonała przeglądu piśmiennictwa w zakresie roli insulinopodobnych czynników wzrostowych oraz specyficznych białek wiążących te czynniki w homeostazie tkanki chrzęstnej. Dyskusja stanowi cenną część przedłożonej mi do oceny rozprawy. Autorka wnikliwie przedyskutowała wyniki swoich badań w odniesieniu do badań innych autorów, co było trudne, chociażby z uwagi na niewielką ilość zbliżonych pod względem merytorycznym publikacji. Odniosła się także krytycznie do uzyskanych wyników badań, co świadczy o jej dojrzałości naukowej.

Na podstawie przeprowadzonych badań oraz szczegółowej analizie uzyskanych wyników Doktorantka przedstawiła wnioski. Stanowią one podsumowanie wyników badań. Wynika z nich, że płyny stawowe zawierają mniejsze ilości IGF-I w porównaniu do surowicy osób badanych; zawartość IGF-I w płynach stawowych zależy głównie od wieku, a mniej od czynników etiologicznych wywołujących badane stany chorobowe. Autorka wykazała także, w oparciu o mniejszą zawartość krótkich peptydów oraz mniejsze nasilenie aktywności żelatynolitycznej, że stawy kolanowe pacjentów młodych wykazują mniejszy stopień destrukcji w porównaniu z grupą pacjentów dorosłych.

Autorka przedstawiła więc odpowiedzi na cele cząstkowe, jednak we wnioskach brakuje odpowiedzi na główny cel pracy obejmujący rolę IGF w przebudowie chrząstki stawowej u badanych pacjentów. Brakuje tu także aspektu praktycznego obejmującego możliwość wprowadzenia nowych strategii diagnostycznych w przebiegu schorzeń tkanki chrzęstnej w oparciu o uzyskane wyniki badań. Oczywiście, z uwagi na wąski panel badań, uzyskane wyniki zachęcają do podjęcia dalszych badań, które mogłyby zakończyć się praktyczną aplikacją w zakresie wdrożenia nowych rozwiązań diagnostycznych.

Uzyskane wyniki badań posiadają moim zdaniem charakter nowatorski, poznawczy, jak i duży potencjał aplikacyjny. Reasumując, pracę mgr Justyny Bączek pt.: **Insulinopodobne czynniki wzrostowe w płynie stawowym i surowicy w przebiegu uszkodzenia stawu kolanowego o różnej etiologii**, oceniam bardzo pozytywnie. Praca stanowi wartościowe, prawidłowo zaplanowane i zrealizowane opracowanie naukowe, a uzyskane wyniki są podstawą do dalszych badań, jak również pozwalają mieć nadzieję, na skuteczną i szybką diagnostykę schorzeń tkanki chrzęstnej.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Z pełnym przekonaniem przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie mgr Justyny Bączek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jolanta Zalejska-Fiolka