

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr *Pauliny Nowińskiej*

pt. „IMMUNOREAKTYWNOŚĆ RECEPTORÓW KANNABINOIDOWYCH CB1 I CB2,
BIAŁKA S100A6, INSULINY I GLUKAGONU W KOMÓRKACH WYSP
TRZUSTKOWYCH U SZCZURÓW MOCZNICOWYCH”

Przedstawiona do oceny dysertacja została wykonana pod kierunkiem naukowym Profesor dr hab. n. med. Ireny Kasackiej i doskonale wpisuje się w główny nurt badań prowadzonych przez Panią Profesor wraz z zespołem, który posiada długoletnie doświadczenie i osiągnięcia w dziedzinie badań nad zmianami w układzie endokrynnym w przebiegu doświadczalnie indukowanego nadciśnienia naczyniowo-nerkowego czy uremii.

Podstawę formalną opracowania niniejszej recenzji stanowi uchwała Rady Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 29 czerwca 2020 roku w sprawie powołania recenzentów rozprawy doktorskiej mgr *Pauliny Nowińskiej*.

Zaprezentowana do oceny dysertacja została przygotowana w postaci monografii w języku polskim. Praca mgr *Pauliny Nowińskiej* liczy 83 strony i posiada układ typowy dla rozpraw doktorskich. Składa się ze spisu treści, poprzedzonego stroną tytułową, wykazu skrótów oraz obszernego wstępu. W dalszej części, dzieło zawiera następujące rozdziały: założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo. Całość pracy uzupełniają spis tabel i rycin.

Rozprawa dotyczy ciągle słabo poznanego, jednak bardzo ważnego zagadnienia jakim jest uremia. Problem jest o tyle poważny, iż szacunkowo u co dziesiątego dorosłego na świecie nerki pracują nieprawidłowo. Rozwój omawianej choroby związany jest z powstawaniem zmian funkcjonalnych i strukturalnych w obrębie miększu nerek i prowadzą do zaburzeń homeostazy kwasowo-zasadowej, regulacji płynów i elektrolitów, produkcji i wydzielania hormonów oraz eliminacji toksycznych produktów przemiany materii. Zatrzymywanie toksyn mocznicowych, które w warunkach prawidłowych wydalone są z moczem, skutkuje zmianami w morfologii i funkcji wielu narządów i komórek.

Te nieprawidłowości mogą powodować zaburzenia metaboliczne, a ostatecznie stany, takie jak: anemia, niedoczynność tarczycy, nadczynność przytarczyc, nadciśnienie, kwasica, hiperkaliemia, dyslipidemia, niedożywienie i zaburzenia osi hormonalnych. Obraz kliniczny towarzyszący mocznicy dotyczy prawie każdego narządu, w tym trzustki.

Niestety nasza dotychczasowa wiedza na temat zmian wewnątrznarządowych wywołanych uremią jest ciągle niewystarczająca, a w obrębie trzustki nieznana, dlatego uważam, że podjęcie przez *Doktorantkę* badań w tym kierunku było ważne i merytorycznie uzasadnione.

Po przedstawieniu części teoretycznej *Autorka* pracy uzasadniła podjęcie badań i sformułowała trzy jednoznacznie określone cele, którymi była:

1. Ocena morfologii wysp trzustkowych w preparatach barwionych metodą H+E.
2. Mikroskopowa ocena zmian immunoreaktywności receptorów kannabinoidowych CB1, CB2, białka S100A6, kanałów wapniowych, insuliny i glukagonu u szczurów z indukowaną chirurgicznie mocznicą i u zwierząt z prawidłową czynnością nerek.
3. Oraz wykonanie pomiarów morfometrycznych w celu obiektywizacji mikroskopowej parametrów wysp trzustkowych oraz intensywności reakcji.

W rozdziale Materiał i metody *Doktorantka* scharakteryzowała wybrany model doświadczenia oraz przebieg eksperymentu, jak również sposób pobierania i utrwalania materiału tkankowego oraz pomiar stężenia mocznika i kreatyniny. W dalszej części szczegółowo zaprezentowała procedurę reakcji immunohistochemicznych (IHC). Całość uzupełniła opisem zastosowanych metod morfometrycznych oraz statystycznych.

Wysoką wartością tego rozdziału jest zamieszczona lista zastosowanych przeciwciał oraz tabelaryczne zestawienie pozostałych odczynników wykorzystanych w badaniach, ich rozcieńczenia, czasy inkubacji z przeciwciałami pierwotnymi i wtórnymi. W tym rozdziale przededagowania wymaga tytuł tabeli nr 3.

Następny rozdział pracy to opis uzyskanych wyników. Zostały one przedstawione na 14 stronach tekstu rozprawy, zaprezentowane w postaci 14 starannie wykonanych mikrofotografii oraz 2 tabel. Ich prezentacja jest czytelna, łatwa w odbiorze a jednocześnie oszczędna w tekście.

W załączonej Dyskusji *Doktorantka* dość lakonicznie opisuje, na tle literatury światowej, otrzymane wyniki. Rozumiem, że brak możliwości konfrontacji uzyskanych rezultatów z wynikami innych prac stwarzał trudność ich interpretacji, dlatego skłonił *Autorkę* pracy do sformułowania kilku śmiałych hipotez, które starała się w omówić. Zastanawia mnie w jakim celu w tym rozdziale *Doktorantka* zamieściła Zestawienie wyników badań receptorów CB1 i CB2 w komórkach wysp trzustkowych myszy, szczurów oraz ludzi (Tabela 7).

Na podstawie przedstawionych badań oraz ich analizy mgr *Paulina Nowińska* wysnuła 4 wnioski końcowe:

1. Stwierdzone w trzustce szczurów mocznicowych zmiany histopatologiczne sugerują, że morfologia i aktywność komórek gruczołu mogą być zakłócone w niewydolności nerek.
2. Przeprowadzone badania potwierdziły obecność receptorów CB1, CB2 oraz białka S100A6 w wyspach trzustkowych szczurów grupy kontrolnej i zwierząt z indukowaną przewlekłą niewydolnością nerek.
3. Wzrost intensywności reakcji wykazującej receptor CB2 i spadek immunoreaktywności receptora CB1 w komórkach wysp trzustkowych szczurów mocznicowych mogą wskazywać na indukcję mechanizmów kompensacyjnych.
4. Spadek intensywności reakcji wykazującej białko S100A6 oraz wzrost immunoreaktywności kanałów wapniowych u szczurów mocznicowych może wskazywać na zaburzenia gospodarki wapniowej. Wynik ten może sugerować również rozwój niezbadanych dotąd mechanizmów wpływających na ekspresję białka S100A6 w warunkach przewlekłej niewydolności nerek.

Dla porządku należy uznać, że przedstawione powyżej spostrzeżenia należy traktować raczej jako podsumowanie a nie rzeczywiste wnioski. Właściwymi wnioskami powinny być raczej stwierdzenia: np. doświadczalnie indukowana mocznicą prowadzi do istotnych zmian w morfologii części endokrynej trzustki oraz zmian immunoreaktywności receptorów CB1, CB2, białka S100A i kanałów wapniowych.

Nie zmienia to faktu, że powyższe punkty są właściwym podsumowaniem uzyskanych wyników.

Szczegółowa analiza rozprawy ujawniła, że *Autorka* nie ustrzegła się pewnych błędów, które z obowiązku recenzenta zmuszona jestem przedstawić w formie uwag krytycznych:

1. Dość obszerny Wstęp pracy zawiera duże fragmenty nieopatrzonych odpowiednimi cytowaniami (podobnie jak Dyskusja), w skutek czego czytelnikowi trudno się zorientować co do źródła przytaczanych opisów. *Doktorantka* powinna więcej uwagi poświęcić zagadnieniom dotyczącym zaburzeniom trzustki w niewydolności nerek w powiązaniu z układem endokannabinoidowym oraz białkiem S100 A6, a mniej na pozostałych aspektach, które omawia w rozdziale 2.4.3. oraz 2.4.4.
2. Tabelę 2. Czynniki zwiększające i zmniejszające mRNA oraz białko S100A6 umieszczoną we Wstępie oraz Tabelę 7. Zestawienie wyników badań receptorów CB1 i CB2 w komórkach wysp trzustkowych myszy, szczurów oraz ludzi zawartą w Dyskusji

sugerowałabym usunąć. W mojej ocenie są one zbędnym dopełniaczem niniejszego opracowania.

Pozostałe uwagi:

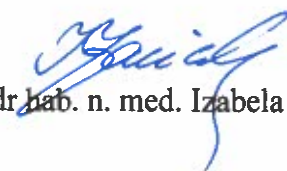
- Wykaz skrótów wymaga uzupełnienia, brakuje w nim między innymi następujących skrótów stosowanych w pracy: *GIP*, *LDCV*, *TM*, *VGCC* i inne. W pracy nie zawsze stosowano zasadę wprowadzenia skrótu po pierwszym użyciu pełnej nazwy i następnie konsekwentnie stosowanie skrótu.
- Brak wszystkich cytowań, dot. poz. 43, 89.
- W Piśmiennictwie brak pozycji cytowanej w tekście (Okazaki i wsp., 1994).
- Pozostałe uwagi: drobne błędy interpunkcyjne oraz pojedyncze literówki.

Uwagi zawarte w mojej recenzji mają raczej charakter techniczny i nie mają wpływu na moją ogólną pozytywną ocenę rozprawy. Należy zaznaczyć, że tematyka pracy jest świeża, a przedłożona dysertacja stanowi opracowanie o charakterze ogólnopoznawczym, natomiast uzyskane wyniki mogą wskazywać kierunek dalszych bardziej wnikliwych dociekań naukowych w tym zakresie.

Reasumując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr *Pauliny Nowińskiej* zatytułowana „*Immunoreaktywność receptorów kannabinoidowych CB1 i CB2, białka S100A6, insuliny i glukagonu w komórkach wysp trzustkowych u szczurów mocznicowych*” spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65/03, poz. 595 z późn. zm.).

Wnoszę zatem wniosek o przyjęcie pracy oraz dopuszczenie Pani mgr *Pauliny Nowińskiej* do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 27 lipca 2020


dr hab. n. med. Izabela Janiuk