



UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE
KATEDRA FARMAKOLOGII DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ

ul. Jaczewskiego 8b (Collegium Pathologicum), 20-090 Lublin

tel.: +48 81448 6450; faks: +48 81448 6451

e-mail tomasz.kocki@umlub.pl

dr hab. n. med. Tomasz Kocki

Lublin, 28 luty 2018 r.

O C E N A

pracy doktorskiej mgr Pauliny Iwaniak

**Wpływ kwasu 2-oksoglutazarowego na budowę histologiczną jelita cienkiego szczurów
poddanych operacji zespolenia przełykowo-jelitowego**

Tematyka badawcza podjęta przez Panią mgr Paulinę Iwaniak dotyczy bardzo istotnego problemu cywilizacyjnej choroby otyłości. Nadmierny przyrost ciała stał się problemem ogólnoswiatowym. Nadwaga i otyłość stały się realnym zagrożeniem dla zdrowia publicznego. Liczba osób otyłych na świecie stale wzrasta. Szacuje się, że w 2025 r. aż 2,7 mld ludzi, czyli co czwarta osoba na świecie, może mieć problemy zdrowotne z powodu otyłości. Uważa się, że główną przyczyną nadwagi i otyłości są nieprawidłowe nawyki żywieniowe, w szczególności spożywanie wysokokalorycznych produktów żywnościowych oraz bardzo istotne zmniejszenie aktywności fizycznej szczególnie u dzieci i młodzieży. Jednocześnie należy podkreślić, że otyłość jest istotnym czynnikiem ryzyka rozwoju chorób układu krążenia takich jak nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca, udary mózgu. Konsekwencje zdrowotne otyłości to również cukrzyca, choroby przewodu pokarmowego, zaburzenia funkcjonowania układu rozrodczego czy nowotwory. Badania naukowe dowodzą również, że u osób z wysokim wskaźnikiem BMI i WHR niezależnie od przyczyny zwiększa się ryzyko zgonu. Badania kliniczne potwierdzają, że leczenie nadwagi i otyłości, a więc spadek masy ciała przynosi wymierne korzyści zdrowotne dla pacjenta np. poprawę istotnych wskaźników kardiologicznych. U podstaw leczenia nadwagi i otyłości leży zmiana stylu życia

a więc zmiana nawyków żywieniowych oraz istotne zwiększenie aktywności fizycznej. Ponadto stosuje się leczenie farmakologiczne. W Polsce w terapii otyłości zarejestrowano dwa leki : sibutraminę oraz preparat złożony Mysimba. Jednak te metody leczenia często nie przynoszą zadowalających efektów dlatego też coraz częściej sięga się po metody alternatywne, wśród których najskuteczniejszymi są operacje bariatryczne. Osoby poddane takim operacjom cierpią jednak na powikłania mogące wynikać z pogorszenia wchłaniania czy zaburzenia perystaltyki jelit. Dlatego też poszukuje się substancji, które zmniejszą działania niepożądane pojawiające się po takich zabiegach.

Rozprawa doktorska Pani mgr Pauliny Iwaniak pt. „Wpływ kwasu 2-oksoglutazarowego na budowę histologiczną jelita cienkiego szczurów poddanych operacji zespolenia przełykowo-jelitowego” wpisuje się doskonale w tą tematykę badawczą. Doktorantka w swojej pracy badawczej podjęła się trudnego zadania oceny wpływu kwasu 2-oksoglutazarowego na struktury w obrębie jelita cienkiego szczurów poddanych operacji bariatrycznej.

Przedłożona do oceny praca została wykonana w Zakładzie Anatomii Porównawczej i Antropologii, Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Antoniego Gawrona. Promotorem pomocniczy powyższej dysertacji jest dr hab. Piotr Dobrowolski.

Praca obejmuje 99 stron oprawionego wydruku komputerowego formatu A4. Posiada typowy układ edytorski: spis treści; wykaz najczęściej stosowanych skrótów i symboli; wstęp, wprowadzający w tematykę dysertacji; cel pracy; materiały i metody badań; wyniki; dyskusja; wnioski; streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo zawierające 102 numerowanych pozycji; oraz spis rycin i tabel oraz dodatek, który zawiera zebrane parametry poszczególnych części jelita wykorzystane w pracy doktorskiej .

Kolejność rozdziałów i cytowane piśmiennictwo nie budzą zastrzeżeń recenzenta. Rozprawa zawiera 1 tabele oraz 35 rycin, które ułatwiają zrozumienie omawianych zagadnień i wyników.

Wykaz skrótów umieszczony na początku pracy doktorskiej opracowano starannie i szczegółowo. Jednak w całym tekście pracy Autorka kilkanaście razy zamiast ustalonego skrótu 2-Ox stosowała pełną nazwę: kwas 2-oskoglutarowy.

Rozprawę otwiera wstęp, podzielony na trzy podrozdziały. W pierwszej części wstępu Doktorantka dość szczegółowo omawia anatomię i fizjologię jelita cienkiego gdzie słusznie

podkreśla istotne znaczenie flory jelitowej w fizjologii i patologii ogólnoustrojowych zaburzeń metabolicznych. W drugim podrozdziale Doktorantka wprowadza czytelnika w bardzo przystępny sposób z definicją i problemami związanymi z otyłością. Opisuje rodzaje otyłości oraz przedstawia wzory współczynników WHR i BMI, wykorzystywane do szybkiej wstępnej oceny masy ciała oraz monitorowania zachodzących w niej zmian. Ponadto Doktorantka w tej części wstępu zawarła sposoby i cele leczenia otyłości, a jedną część podrozdziału poświęciła na omówienie metod operacyjnego leczenia otyłości. Opis ubogaciły kolorowe ryciny – schematy poszczególnych rodzajów operacji bariatrycznych.

Niewielką uwagę mam do informacji o farmakologicznym leczeniu otyłości, ponieważ obecnie w Polsce od 2016 roku oprócz wspomnianego w tekście orlistatu do leczenia farmakologicznego otyłości jest zarejestrowany nowy lek złożony Mysimba, w skład którego wchodzi naltrekson oraz bupropion. W trzecim podrozdziale wstępu Doktorantka wyczerpująco opisuje budowę, metabolizm i znaczenie patofizjologiczne dla układu pokarmowego kwasu 2-oksoglutarynowego.

W oparciu o przesłanki przedstawione we wstępie został precyzyjnie sformułowany cel rozprawy, którym było określenie jak operacja zespolenia przełykowo-jelitowego wpływa na strukturę jelita cienkiego oraz czy kwas 2-oksoglutarynowy może przeciwdziałać skutkom niepożądanym operacji bariatrycznej. Moja uwaga dotyczy określenia użytego kilka razy przez Doktorantkę „skutki uboczne”, trafniej byłoby zastąpić je skutkami niepożądanymi, ponieważ raczej o takie chodziło Autorce pracy.

Rozdział *MATERIAŁY I METODY* został zawarty na 10 stronach. Bardzo dokładny opis metodologii zastosowanej w tej części pracy wskazuje na doskonałe opanowanie warsztatu doświadczalnego przez Doktorantkę. Niewątpliwie wyznaczyła sobie ona ambitne zadania badawcze o bardzo dużym stopniu trudności, wymagające ogromnej precyzji eksperymentatora. Przedstawiono w nim w sposób dokładny opis doboru zwierząt laboratoryjnych oraz opis przeprowadzonych poszczególnych operacji w obrębie jamy brzusznej. W następnych podrozdziałach tej części dysertacji Doktorantka szczegółowo opisała procedury związane z pobieraniem tkanki z jelita cienkiego w celu przygotowania preparatów histologicznych, a następnie także w bardzo precyzyjny sposób przedstawiła zastosowane metody pomiaru poszczególnych parametrów niezbędnych do oceny zmian jelita cienkiego pod wpływem przeprowadzonych operacji i zastosowania kwasu 2-oksoglutarynowego. Na uwagę zasługują kolorowe ryciny – schematy pomiarów histomorfometrycznych, co bardzo ułatwia czytelnikowi zrozumienie metody pomiarów. Do

analizy statystycznej wyników prawidłowo zastosowano standardowe testy statystyczne oraz wykorzystano jak myślę autorski model statystyczny, który niestety jest niejasny dla czytającego i wymaga dokładniejszego opisu poszczególnych czynników wykorzystanych do obliczeń.

Do tej części pracy mam kilka uwag i pytań:

- dlaczego do doświadczeń zostały wybrane właśnie te odcinki jelita cienkiego, a mianowicie dwunastnica i część jelita czczego?

- interesuje mnie również dlaczego do doświadczeń wybrano dawkę 0,2 g/kg masy ciała/dzień kwasu 2-oksoglutarynowego oraz dlaczego eksperyment trwał 6 tygodni?

Ponadto pojawiło się kilka mało znaczących błędów np. środek znieczulający to Stresnil a nie omyłkowo użyty Strenil oraz raczej surowice przechowuje się w temp poniżej -80°C a nie jak opisano w tekście także omyłkowo powyżej 80°C .

Rozdział czwarty *WYNIKI* liczy 31 stron maszynopisu. Doktorantka w sposób klarowny przedstawia interesujące wyniki badań własnych. W odpowiednim miejscu do każdego opisu wyniku badań Autorka dołączyła ryciny, co bardzo ułatwia czytającemu szybką weryfikację rezultatów badań. Ponadto rozdział ubogacają dobrej jakości fotografie mikroskopowe nabłonka jelita cienkiego szczurów dokumentujące omawiane wyniki. Do ciekawych obserwacji można zaliczyć fakt, że kwas 2-oksoglutarynowy istotnie przywracał do normy poziom leptyny „hormonu sytości” u zwierząt poddanych operacji bariatrycznej.

Uwagi dotyczące tego rozdziału są związane z opisem rycin. Większość wyników przedstawiona jest w postaci diagramów słupkowych gdzie zostały zaznaczone poszczególne efekty doświadczeń. Nad słupkami umieszczono litery a, b lub c oraz ich kombinacje, które mają określać różnice istotne statystycznie. Jednak jest to dość niezrozumiałe dla czytającego i tytuły rycin powinny być uzupełnione o pełniejszą informację na ten temat.

Rozdział *DYSKUSJA* liczy 9 stron. Dyskusja jest ciekawie poprowadzona i czyta się ją z dużym zainteresowaniem. Autorka umiejętnie łączy dane z piśmiennictwa z własnymi wynikami. Jednak w tym rozdziale dysertacji brakuje mi wyjaśnienia przez autorkę niektórych prawdopodobnych przyczyn powstałych zmian w jakże interesujących doświadczeniach. W związku z tym czytającemu ten rozdział nasuwają się pytania do Doktorantki:

- Dlaczego kwas 2-oksoglutarynowy zwiększał grubość błony śluzowej u zwierząt operowanych, w obu badanych odcinkach jelita cienkiego, niż u szczurów u których wykonano operację pozorną?

oraz

- Dlaczego kwas 2-oksoglutarynowy zwiększał liczbę komórek prezentujących antygen Ki- 67 po przeprowadzonej operacji zespolenia przełykowo - jelitowego?

Nie zgodzę się również ze stwierdzeniem w dyskusji (str 73), cytuję: „Z kolei u zwierząt, które nie były narażone na stres związany z operacją kwas 2-oksoglutarynowy nie wywoływał istotnych zmian w obrębie kosmków jelitowych”. Wszystkie grupy zwierząt były poddane mniej lub bardziej zaawansowanej metodycznie operacji i jednocześnie stresowi.

Pewien niedosyt także budzi brak pełniejszego przedyskutowania parametru masy ciała zwierząt i jego zmian pod wpływem interwencji chirurgicznej.

Wnioski stanowiące logiczne podsumowanie wyników rozprawy doktorskiej zawarto w 7 punktach.

Streszczenia w języku polski i angielskim prezentują najważniejsze problemy i zagadnienia omawiane w pracy doktorskiej.

Na końcu pracy został umieszczony rozdział *Dodatek*, który zawiera zebrane parametry poszczególnych części jelita wykorzystane w pracy doktorskiej. Brakuje jednak wyjaśnienia jakie jednostki miary należy przypisać poszczególnym parametrom.

Przedstawione powyżej uwagi są jednak nieliczne i nie umniejszają wartości przedstawionej dysertacji.

Podsumowując rozprawę doktorską Pani mgr Pauliny Iwaniak pt.: „Wpływ kwasu 2-oksoglutarynowego na budowę histologiczną jelita cienkiego szczurów poddanych operacji zespolenia przełykowo-jelitowego” oceniam pozytywnie, a uzyskane przez Doktorantkę wyniki mogą przyczynić się do praktycznego wykorzystania w przeciwdziałaniu skutkom niepożądanym coraz częściej wykonywanych operacji bariatrycznych u ludzi.

Niniejsza rozprawa doktorska odpowiada wymogom stawianym pracom doktorskim w myśl ustawy 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.).

Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Iwaniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, dn. 28 lutego 2018 r.

A handwritten signature in blue ink, reading "Tomasz Kocki". The signature is fluid and cursive, with the first name "Tomasz" and the last name "Kocki" clearly distinguishable.

dr hab. n. med. Tomasz Kocki