



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Katedra i Zakład Rehabilitacji Medycznej i Fizjoterapii Klinicznej

Szczecin, 15.05.2023

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Iwona Rotter

Kierownik Katedry i Zakładu Rehabilitacji Medycznej i Fizjoterapii Klinicznej PUM

Ul. Żołnierska 54, 71-210 Szczecin

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Karoliny Salwierak-Głośnej

Rozprawa doktorska pt. **„Wpływ płynu mózgowo-rdzeniowego i środowiska oligodendrocytarnej linii komórkowej na sekretom mezenchymalny komórek macierzystych z galarety Whartona w kontekście patologii stwardnienia rozsianego”** została wykonana przez Panią lek. Karolinę Salwierak-Głośną pod kierunkiem Pani dr hab. n. med. Prof. UM w Łodzi Marioli Świderek-Matysiak. Przedstawiony w dysertacji eksperyment badawczy został przeprowadzony w Klinice Neurologii Uniwersyteckiego szpitala Klinicznego nr 1 w Łodzi im. Norberta Barlickiego. Na przeprowadzenie badania została wydana zgoda Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi.

Stwardnienie rozsiane (SM) jest najczęstszą chorobą demielinizacyjną ośrodkowego układu nerwowego przebiegającą zazwyczaj z okresami zaostrzeń i remisji, zazwyczaj rozpoczynającą się u młodych dorosłych osób. Pomimo ogromnego postępu w leczeniu farmakologicznym na przestrzeni ostatnich lat, SM wciąż jest schorzeniem nieuleczalnym i może prowadzić do znacznego ograniczenia sprawności, co w efekcie negatywnie wpływa na jakość życia osób chorych. Stąd też istnieje potrzeba prowadzenia badań, które mogą się przyczynić do dalszego postępu w leczeniu pacjentów SM. Biorąc pod uwagę częstość występowania SM i możliwe konsekwencje tej choroby uważam za w pełni zasadne podjęcie przez lekarz Karolinę Salwierak-Głośną badań dotyczących oceny wpływu płynu mózgowo-rdzeniowego i środowiska oligodendrocytarnej linii komórkowej na sekretom mezenchymalnych komórek macierzystych z galarety Whartona w kontekście patologii stwardnienia rozsianego.

Ocena formalna pracy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska liczy 135 stron, zawiera 13 rycin, 7 tabel, 272 pozycje piśmiennictwa zamieszczonego w kolejności cytowań w tekście. Układ pracy jest typowy dla prac doktorskich z dziedziny nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Główny tekst rozprawy doktorskiej poprzedzony jest spisem treści i wykazem stosowanych skrótów, co znacznie ułatwia czytanie pracy. W skład tekstu głównego rozprawy wchodzi Wstęp, który zawiera dwa podrozdziały teoretyczne dotyczące tematyki pracy. W pierwszym podrozdziale Autorka opisała problematykę stwardnienia rozsianego z uwzględnieniem epidemiologii, historii, patogenez, patomorfologii, przebiegu i typów SM oraz leczenia, a w drugim terapię komórkową w SM. Następnie w dysertacji znajduje się rozdział zawierający założenia i cele pracy. W dalszej kolejności Autorka przedstawia bardzo szczegółowo materiał i metody badawcze. W kolejnym rozdziale w pięciu podrozdziałach Doktorantka opisuje uzyskane wyniki badań. Następnie praca zawiera 10-stronicową dyskusję, a po niej wnioski. W dalszej części dysertacji znajduje się streszczenie w języku polskim i angielskim oraz dane bibliograficzne publikacji z tematyki badań, piśmiennictwo, spis rycin i spis tabel. Autorka do pracy dołączyła również płytę CD-R z wersją elektroniczną dysertacji. Autorka sprawnie posługuje się językiem medycznym. W dysertacji znajduje się kilka błędów edytorskich, które nie mają znaczenia merytorycznego.

Uwaga techniczna: uważam, że początek każdego głównego rozdziału powinien zaczynać się na nowej stronie.

Ocena merytoryczna pracy

Dwa podrozdziały zawarte we Wstępie stanowią przegląd piśmiennictwa i są oparte na opracowaniach analitycznych i badaniach oryginalnych autorów zajmujących się poruszaną w niniejszej dysertacji tematyką. W pierwszym z nich Doktorantka na podstawie dobrze dobranej literatury syntetycznie przedstawia problematykę stwardnienia rozsianego wzbogacając opis interesującymi rycinami. Domyślam się, że ryciny te zostały opracowane przez Doktorantkę- warto byłoby w podpisie rycin napisać, że jest to opracowanie własne. Drugi podrozdział dotyczy terapii komórkowej w SM. Autorka wyjaśnia, czym są komórki macierzyste, podaje ich podtypy. Dużo uwagi poświęca mezenchymalnym komórkom macierzystym ze szczególnym uwzględnieniem możliwości ich pozyskiwania z galarety Whartona, co jest w pełni uzasadnione w odniesieniu do przeprowadzonego przez Doktorantkę eksperymentu badawczego. W tej części pracy Autorka zaprezentowała w Tab. 2 wykaz 12 badań klinicznych opisujących zastosowanie komórek mezenchymalnych w terapii pacjentów z SM, co dowodzi ogromnej wnikliwości naukowej i umiejętności korzystania z literatury tematu przez Doktorantkę. Podsumowując część teoretyczna jest wnikliwa, rzeczowa, spójna i świadczy do dobrej znajomości tematu.

Rozdział przedstawiający założenia i cele pracy został przygotowany zwięźle i precyzyjnie. Autorka przyjęła cztery założenia i dostosowała do nich cele badawcze.

W opisie materiału i metod Doktorantka podała źródło, z którego pozyskała komórki mezenchymalne - WJ-MS-C: Polski Badań Komórek Macierzystych oraz wskazała jaki rodzaj

komórek został użyty do eksperymentu (oligodendrocyty z linii hodowlanej M03.-13). W przeprowadzonym badaniu wykorzystana też jednojądrzaste komórki z krwi pacjentów z SM i zdrowej kontroli oraz płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR). Autorka pozyskała do eksperymentu 11 płynów mózgowo-rdzeniowych od pacjentów z SM i 7 płynów kontrolnych od osób bez SM, u których płyn był pobierany w związku z diagnostyką choroby podstawowej. Doktorantka precyzyjnie opisała wszystkie czynności związane z hodowlami komórkowymi, co przedstawiła również na rycinach. W tab. Nr 3 zaprezentowała wykaz wykorzystanych odczynników. W dalszej części w opisie metodyki przedstawiła sposób monitorowania wykorzystanych w eksperymencie komórek WJ-MSC i M03-13 za pomocą mikroskopu elektronowego, co wzbogaciła zdjęciami. Przedstawiła metodykę analizy sekretomów za pomocą muliELISA. Każda próbka była jednocześnie analizowana w dwóch powtórzeniach, co jest zgodne z ogólnie przyjętymi zasadami przy wykorzystaniu metody ELISA. Następnie opisała wykorzystanie metody statystyczne- dobrane odpowiednio do charakteru badania. Pozornie może się wydawać, że ocena przeprowadzona w 11 płynach mózgowo-rdzeniowych pacjentów z SM i 7 kontrolnych to stosunkowo niewiele jak na pracę doktorską, ale w tego typu badaniach doświadczalnych jest to absolutnie wystarczająco, a ilość przeprowadzonych w materiale biologicznym analiz- ocena stężeń 27 cytokin, chemokin i czynników wzrostu jest imponująca- tak zaprojektowane badanie wymagało dużego zaangażowania czasowego i organizacyjnego Doktorantki.

Wyniki zostały przedstawione w sposób opisowy, graficzny i tabelaryczny. Doktorantka wykazała w teście proliferacji znaczące działanie immunosupresyjne WJ-MSC w bezpośredniej hodowli z komórkami jednojądrzastymi w grupie chorych, a w nadsączach komórkowych WJ-MSC stwierdziła obecność wszystkich badanych cytokin, chemokin i czynników wzrostu, w tym też przy inkubacji z PMR u chorych i w kontroli. Dalsza część doświadczenia pokazała różnice w stężeniach badanych białek w hodowlach WJ-MSC oraz hodowlach WJ-MSC w obecności PMR chorych na SM i kontroli. Autorka przeanalizowała również wpływ czynnika dojrzewania oligodendrocytów (PMA) na sekretom WJ-MSC, w tym też uwzględnieniem hodowli z PMR dla chorych i kontroli. Analizę wyników ułatwiają dobrze przygotowane ryciny, aczkolwiek ryciny 10 i 13 mogłyby być większe (czcionka). Podkreślam raz jeszcze, że mnogość wykonanych analiz wyraźnie pokazuje, jak wiele pracy musiała wykonać Doktorantka, aby zrealizować cele badania.

Treść Dyskusji jest przemyślana, logiczna, rzetelna, spójna. Autorka dobrze dobrała piśmiennictwo do dyskusji. Krok po kroku z dużą precyzją przeanalizowała wszystkie otrzymane wyniki i odniosła je do badań innych autorów. Wykazała się też umiejętnością krytycznej oceny własnych badań, co świadczy o dojrzałości naukowej. Przedstawiła też dalsze plany badawcze, które Doktorantka będzie mogła zrealizować dzięki zabezpieczeniu części materiału biologicznego. Szkoda, że po głównym tekście Dyskusji Doktorantka nie wyeksponowała w oddzielnym podrozdziale implikacji praktycznych.

Konsekwentna realizacja celów badania pozwoliła Autorce na sformułowanie siedmiu wniosków, które są jednoznaczne, prawidłowo sformułowane i dobrze przemyślane. Szczególnie istotny jest w mojej ocenie wniosek nr 3, który wskazuje na wpływ PMR na skład sekretomu WJ-MSC- ma in

istotne znaczenie praktyczne w odniesieniu do wypracowania w przyszłości rekomendacji co do drogi podawania komórek macierzystych u chorych z SM, o ile taka terapia zostanie dopracowana i uznana za skuteczną.

Streszczenie jest zredagowane prawidłowo i zawiera wszystkie najważniejsze elementy rozprawy. W pracy brakuje słów kluczowych. Zwyczajowo wskazuje się je na końcu streszczenia.

Piśmiennictwo w liczbie 272 pozycji pod względem merytorycznym zostało dobrane i zacytowane prawidłowo, w większości pochodzi z ostatnich 15 lat. Autorka wykorzystała również starsze publikacje, które miały istotne znaczenie poznawcze w zakresie tematyki badania. Cytowania pochodziły głównie z wydawnictw ciągłych ze współczynnikiem wpływu IF, co świadczy o dobrej znajomości osiągnięć naukowych dotyczących analizowanej problematyki. W mojej ocenie sposób techniczny opisu piśmiennictwa jest niejednorodny. Dane bibliograficzne pozycji 41 są niekompletne, tytuły czasopism pisane są zazwyczaj drukiem prostym, ale czasami kursywą, w większości podane są skróty nazw czasopisma, ale też podane są całe nazwy (poz. 228), w części prac wieloautorskich podane są wszystkie nazwiska, a w innych tylko trzy pierwsze, różna jest kolejność danych bibliograficznych i sposób ich zapisu. W źródłach internetowych brakuje podania daty dostępu.

Biorąc pod uwagę mnogość użytych odczynników należy założyć, że przeprowadzony eksperyment badawczy był kosztochłonny. Warto było wskazać w pracy źródło finansowania badania.

Podsumowując uważam, że dysertacja jest spójna, klarowna, przemyślana i dowodzi dojrzałości naukowej. Przeprowadzony przez lek. Karolinę Salwierak-Głośną eksperyment badawczy został bardzo dobrze opracowany, a jego wyniki są wartościowe pod względem poznawczym i praktycznym. Wskazane przeze mnie drobne uwagi nie obniżają w żaden sposób wartości merytorycznej przedłożonej do oceny pracy.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. Karoliny Salwierak-Głośnej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. z 2022, poz. 574 ze zm.). W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarz Karoliny Salwierak-Głośnej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na wysoką wartość merytoryczną i poznawczą pracy, o czym świadczy publikacja z tematyki pracy w czasopiśmie International Journal of Molecular Sciences ze współczynnikiem wpływu IF-6,208, wnoszę o wyróżnienie przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej.


KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Rehabilitacji Medycznej
i Fizjoterapii Klinicznej

prof. dr hab. n. med. i n. zdr. Iwona Rotter