

Bydgoszcz, 1.09. 2023

Ocena rozprawy doktorskiej

lek. med. Olgi Adamskiej

pt. „Badania nad wpływem farmakologicznie wywołanej cukrzycy na morfologiczne zmiany oraz wpływem melatoniny na stężenie markerów biochemicznych stresu oksydacyjnego w więzadłach stawu kolanowego”

Populacja pacjentów chorujących na cukrzycę systematycznie się zwiększa, a prognozy WHO na najbliższe lata wskazują, że taka sytuacja będzie się nadal utrzymywała. Zaburzenia metabolizmu glukozy dotyczą wszystkich tkanek, a także prostych oraz złożonych procesów komórkowych. W dziedzinie ortopedii i traumatologii narządu ruchu, obszarem szczególnie podatnym na zaburzenia metabolizmu węglowodanów, tłuszczów i białek, podstawowych komponentów odpowiedzialnych za homeostazę i aktywność komórkową i tkankową, są więzadła. Około 1/3 struktury więzadeł tworzą kolagen, proteoglikany, elastyna i inne białka (aktyna, laminina, integryny). Biologiczny proces starzenia się organizmu w wielu aspektach jest podobny do zmian zachodzących w przebiegu cukrzycy (podobne morfologiczne zmiany struktury tkanki łącznej podczas starzenia się organizmu i w przebiegu cukrzycy obserwowane są w więzadłach, ścięgnach, kościach i skórze). Zarówno podczas biologicznego starzenia się organizmu, jak i w cukrzycy, obserwuje się gromadzenie końcowych produktów glikacji w tkance łącznej (AGEs – advanced glycation end products), a włókna kolagenowe obecne w więzadłach są tu szczególnie podatne. Efekt końcowy w postaci ograniczenia czynności narządu ruchu, w tym ograniczenia fizjologicznej funkcjonalności więzadeł – jest wspólny. Nie ulega wątpliwości, że obecność cukrzycy w fizjologicznym procesie starzenia, znacząco ten proces przyspiesza, zmieniając właściwości biomechaniczne więzadeł, ich zdolności do regeneracji i tym samym – ograniczając czynność narządu ruchu.

Pani Olga Adamska podjęła się niezwykle interesujących badań, oceniających obraz morfologiczny i procesy biochemiczne zachodzące w tkankach w warunkach niewyrównanej, farmakologicznie indukowanej cukrzycy.

Moje szczególne zainteresowanie wzbudziła hipoteza, mówiąca o możliwych drogach/ mechanizmach molekularnych powstawania zmian w więzadłach u pacjentów z cukrzycą w porównaniu do biologicznego procesu starzenia.

Doktorantka sprecyzowała szczegółowe cele badań, w tym:

- ocenę mikroarchitektury więzadła (lewego pobocznego piszczelowego tylnej kończyny) oraz mechanizmów degeneracyjnych u szczurów z cukrzycą w porównaniu z tkanką zdrowego szczura;
- ocenę stanu więzadeł po operacji chirurgicznej i pozorowanej u szczurów z cukrzycą w porównaniu do szczurów zdrowych;
- analizę stężeń inhibitorów aktywności autooksydacyjnej peroksydazy lipidowej, NO, S-transferazy glutationu, ceruloplazminy, albuminy, kwasu moczowego w tkankach i osoczu krwi szczurów z cukrzycą w porównaniu do szczurów zdrowych;
- ocenę efektu suplementacji melatoniny na zmniejszenie poziomu markerów biochemicznych stresu oksydacyjnego w tkankach i osoczu krwi u zwierząt zdrowych i hiperglikemicznych;
- ocenę poziomu markerów biochemicznych stresu oksydacyjnego we wszystkich grupach badanych.

Cele pracy zostały sprecyzowane jasno, w oparciu o doskonale przygotowany przegląd piśmiennictwa, przedstawiony we Wstępie. Doktorantka przestawiła w nim molekularne podłoże powikłań cukrzycy, w tym zmiany zachodzące w układzie kostno-szkieletowym, co ma szczególne znaczenie w chirurgii ortopedycznej. Szczególną uwagę poświęciła zmianom histologicznym i biochemicznym zachodzącym w więzadłach w przebiegu cukrzycy, a dane zebrane w Tabeli I są doskonałym podsumowaniem aktualnej wiedzy (już samo opisowe rozwinięcie tych danych stanowiłoby doskonały materiał na pracę poglądową).

Należy podkreślić, że każdy z przedstawionych celów badań mógłby stanowić cel oddzielnej pracy badawczej, ze względu na złożoność metodyczną, poziom i atrakcyjność badawczą a także złożoność interpretacyjną.

Badania przeprowadzono w grupie 40 szczurów, podzielonych losowo na cztery podgrupy (z czego dwie stanowiły grupy kontrolne, a dwie były grupami zwierząt z farmakologicznie indukowaną cukrzycą). Doktorantka słusznie podkreśliła, że szczury są gatunkiem najczęściej wykorzystywanym w badaniach

układu mięśniowo-szkieletowego i jego pourazowej regeneracji. Liczebność grup w zaproponowanym modelu badawczym jest w pełni wystarczająca do przeprowadzenia analizy uzyskanych wyników i wiarygodnego wnioskowania.

Zaproponowany i zrealizowany przez Doktorantkę model doświadczalny pozwala na zrealizowanie postawionych celów. Jest to model oryginalny, z pewną dozą wyrafinowania eksperymentalnego, co pozwala na wysoką ocenę zastosowanej metody w tym konkretnym badaniu. Lek. med. O. Adamska wykazała się umiejętnościami chirurgicznymi, a świadczy o tym fakt, że u wszystkich zwierząt zrealizowano zaplanowany program badawczy. Badania przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi wytycznymi dotyczącymi eksperymentów na zwierzętach. Do oceny wyników badań histopatologicznych zastosowano skalę Sairyo.

Pani O. Adamska uzyskała wiele interesujących wyników. Chciałabym zwrócić uwagę na niektóre z nich. Na szczególne podkreślenie zasługuje obserwacja wskazująca, że choć we wszystkich operowanych więzadłach pojawiły się zmiany histopatologiczne (zwapnienia), to jednak były one dużo bardziej nasilone u szczurów z cukrzycą (znaczące zwłóknienia, utrata i włókien elastyny w więzadle operowanym). Tkanki pochodzące od zwierząt z cukrzycą wykazywały rozluźnienie włókien kolagenowych z naciekiem limfocytarnym, obecnością komórek tucznych i nadreaktywnością fibroblastów, co wskazuje, jak pisze Autorka – na „upośledzone zdolności regeneracyjne, obecność stanu zapalnego i przebudowy”.

Badania biochemiczne wykazały m.in. znaczne zwiększenie poziomu peroksydazy lipidowej w homogenacie tkankowym więzadeł w grupie szczurów z cukrzycą, zwiększenie poziomu peroksydazy lipidowej i kwasu moczowego w osoczu u szczurów z cukrzycą, zmniejszenie stężenia albumin, ceruloplazminy i tioli, przy zwiększeniu poziomu tlenu azotu. Wyniki uzyskane u szczurów z cukrzycą wskazują na wysoki poziom stresu oksydacyjnego, cukrzyca wydaje się zatem prowadzić do zmniejszenia tkankowej aktywności antyoksydacyjnej. Podanie melatoniny (hamującej peroksydację lipidów), ogranicza zwiększoną produkcję wolnych rodników i poprawia tkankowy status oksydacyjny, również w badanych więzadłach.

Dyskusja wyników jest logiczna i wyczerpująca. Autorka posługuje się zwięzłą argumentacją, precyzyjnie cytując aktualne publikacje. Za wyjątkowo interesujący uważam fragment dyskusji dotyczący melatoniny i jej wszechstronnego działania fizjologicznego. Melatonina, kiedyś nazwana

„hormonem ciemności” produkowanym przez szyszynkę, okazała się być znaczącym antyoksydantem, działającym również na poziomie jądra komórkowego. Szczury z cukrzycą, leczone melatoniną, wykazują zmniejszenie poziomu glukozy, triglicerydów i cholesterolu we krwi. Wyniki Pani O. Adamskiej wpisują się w te obserwacje, istotnie je rozszerzając o działanie wspomagające m.in. regenerację tkanki łącznej po zabiegach/ urazach ortopedycznych.

W podsumowaniu rozprawy Pani O. Adamska sprecyzowała 7 wniosków. Trzy ostatnie (5-7) są właściwym podsumowaniem badań prowadzonych przez Autorkę:

- Cukrzyca hamuje fizjologiczne mechanizmy obronne przed stresem oksydacyjnym, osłabiając więzadła;
- Cukrzyca i stres oksydacyjny to główni „sprawcy” uszkodzenia więzadeł i utrudnienia ich regeneracji po urazach i zabiegach chirurgicznych;
- Podawanie melatoniny hamuje peroksydację lipidów, poprawiając przy tym tkankową reakcję na stres oksydacyjny.

Tekst angielski rozprawy jest bardzo dobry, zwarty i logiczny, co na pewno przyczyni się do powstania prac opublikowanych w dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Trochę mniej zręczne językowo jest polskie streszczenie, ale to uwaga nieumniejszająca jakości rozprawy.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) i wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych WUM o dopuszczenie lek. med. Olgi Adamskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy. Za tym wnioskiem przemawiają następujące argumenty:

- Rozprawa podejmuje temat o dużym znaczeniu praktycznym, a wyniki badań eksperymentalnych przeprowadzonych na zwierzętach znajdują zastosowanie praktyczne w postępowaniu terapeutycznym u ludzi;
- Wyniki lek. med. O. Adamskiej – poza znaczeniem praktycznym – mają duże znaczenie poznawcze: wyjaśniają mechanizm osłabienia czynności i zdolności regeneracyjnych więzadeł u pacjentów z cukrzycą, w tym u pacjentów

poddanych zabiegom chirurgicznym w obrębie więzadeł, pośrednio wyjaśniają także wpływ cukrzycy na proces starzenia się organizmu ;

- Rozprawa jest pracą oryginalną, znakomicie zaplanowaną;
- Praca prezentuje bardzo wysoki poziom pod względem metodycznym i interpretacyjnym, badania obejmują wiele wątków, a każdy z nich jest materiałem na oddzielną publikację;
- Pod względem dojrzałości badawczej, przedstawiona rozprawa jest wyjątkową pracą, odbiegającą od schematów i prezentującą oryginalną osobowość Autorki.

Zatem z pełnym przekonaniem wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

Prof. dr hab. med. Małgorzata Tafil- Klawe

