

Prof. zw. dr hab. med. Radosław Rola
Katedra i Klinika Neurochirurgii
i Neurochirurgii Dziecięcej
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Gołubczyk
pt. „Wykorzystanie technik wewnątrznaczyniowych w modelowaniu i leczeniu
schorzeń neurologicznych “
przygotowanej pod kierunkiem dr hab. med. Piotra Walczaka
z Kliniki Neurochirurgii Wydziału Lekarskiego, Collegium Medicum,
Uniwersytetu Warmińsko- Mazurskiego w Olsztynie

Schorzenia ośrodkowego układu nerwowego stanowią jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny będąc istotnym odsetkiem tzw. schorzeń cywilizacyjnych XXI wieku. Ze względu na dramatyczny wzrost zapadalności na te schorzenia jak i w znakomitej ich większości brak skutecznego leczenia są one jednym z głównych problemów społeczno-ekonomicznych społeczeństw wysoko rozwiniętych. Jednym z istotnych czynników odpowiedzialnych z ten stan rzeczy jest brak adekwatnych modeli zwierzęcych umożliwiających indukowanie schorzeń o przebiegu zbliżonym do występujących u człowieka jak również testowanie nowych terapii w organizmach o fizjologii zbliżonej do ludzkiej. Stosowane najczęściej w badaniach przedklinicznych modele zwierzęce oparte są na gryzoniach, niestety na przestrzeni lat okazało się, że wiele z badań klinicznych opartych na obiecujących strategiach terapeutycznych opracowanych na małych zwierzętach zakończyło się niepowodzeniem. Za powód tego uznaje się nieadekwatność modeli indukowanych w małych zwierzętach eksperymentalnych (myszach i szczurach) wobec organizmu ludzkiego. W tym kontekście istotnego znaczenia nabierają projekty badawcze zorientowane na opracowanie i charakteryzację modeli zwierzęcych chorób ośrodkowego układu nerwowego z zastosowaniem dużych zwierząt jak również ich

zastosowanie celem weryfikacji nowych metod o dużym potencjale terapeutycznym w tych schorzeniach. W powyższy nurt znakomicie wpisuje się praca doktorska mgr Dominiki Gołubczyk, która podejmuje bardzo aktualny problem zastosowania technik neuroendowaskularnych dla potrzeb mało inwazyjnej procedury indukcji udaru niedokrwinnego u świni domowej oraz zastosowania techniki przeszczepu komórek macierzystych do ośrodkowego układu nerwowego dużych zwierząt jako potencjalnego czynnika terapeutycznego i/lub nośnika systemów terapeutycznych do zastosowania w leczeniu schorzeń centralnego układu nerwowego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska oparta jest na 2 wcześniejszych publikacjach Doktorantki w czasopismach recenzowanych o sumarycznym IF 7,996 i stanowi rekapitulację zawartych w nich wyników podzieloną na rozdziały typowe dla dysertacji doktorskiej. Zawiera ona 44 strony tekstu i 10 rycin a piśmiennictwo zawiera 23 pozycje literatury starannie wyselekcjonowane z piśmiennictwa załączonych do pracy oryginalnych publikacji. Praca napisana jest ładną polszczyzną, zastrzeżenia budzi jedynie fakt, że Autorka stosunkowo często stosuje makaronizmy tam, gdzie mógłby zastosować polską terminologię. Na szczególną pochwałę zasługuje natomiast oprawa edytorska pracy, dzięki której Doktorantka unika często spotykanych błędów literowych czy też literaturowych tym samym ułatwiając zapoznanie się z często bardzo szczegółowymi rozważaniami.

We wstępie Autorka krótko przedstawia tematykę dysertacji oraz uzasadnia podjęcie tematu po czym na końcu rozdziału w sposób klarowny formułuje hipotezę badawczą oraz definiuje zadania badawcze jednocześnie odnosząc się do prac cyklu stanowiącego podstawę dysertacji.

W rozdziale poświęconym metodologii Autorka przedstawia organizację doświadczeń wykonanych w ramach opublikowanych badań oraz bardzo szczegółowo charakteryzuje zastosowane techniki zabiegowe, protokoły obrazowania oraz sposoby pozyskiwania i analizy zgromadzonego materiału biologicznego. W ocenie recenzenta szczególnie pomocne są graficzne schematy doświadczeń, które znacznie ułatwiają zrozumienie złożonych zagadnień technicznych w ramach realizacji eksperymentów.

W rozdziale poświęconym wynikom mgr Gołubczyk szczegółowo przedstawia wyniki uzyskane w obydwu grupach doświadczeń – ten rozdział jest rozbudowany i bogato ilustrowany za pomocą rycin przedstawiających wyniki skanów rezonansu magnetycznego mózgowia zwierząt doświadczalnych oraz analizy

histologicznej materiału biologicznego pozyskanego w ramach eksperymentów. Szczególnie interesującym aspektem przeprowadzonych badań są jednak zaprezentowane w kolejnym podrozdziale wyniki oceny ekspresji genów które mają kluczowe znaczenie w kontekście funkcji neuronalnej i glejowej oraz procesów neurodegeneracyjnych u psów z mielopatią degeneracyjną poddanych procedurze przeszczepu mezenchymalnych komórek macierzystych, co sugeruje duży potencjał terapeutyczny przedstawionego modelu.

We wnioskach będących podsumowaniem przeprowadzonej wcześniej analizy Autorka wskazuje na fakt, że w ramach przeprowadzonych eksperymentów wykazała ona możliwość zastosowania drogi wewnątrznaczyniowej do wywołania udaru niedokrwiennego u świń a zastosowanie obrazowania rezonansem magnetycznym w czasie rzeczywistym odgrywa kluczową rolę w monitorowaniu i potwierdzeniu tworzenia się skrzepu wywołanego trombiną i wynikającej z tego blokady perfuzji z następczym niedokrwieniem mózgowia. Następnie mgr Gołubczyk podkreśla, że stworzony nowy model udaru niedokrwiennego u świni, charakteryzuje się dużym znaczeniem klinicznym z możliwością manipulowania rozmiarem zmiany udarowej. W kolejnych z wniosków Doktorantka stwierdza, że badane przez nią dotętnicze podanie komórek macierzystych jest bezpieczne a dotętnicza transplantacja mezenchymalnych komórek macierzystych prowadzi do ich akumulacji w mózgu, co czyni ją atrakcyjną drogą dostarczania systemów terapeutycznych w chorobach neurodegeneracyjnych a zastosowane w ramach doświadczeń obrazowanie rezonansem magnetycznym w czasie rzeczywistym odgrywa kluczową rolę w monitorowaniu i potwierdzeniu akumulacji tych komórek w mózgu.

Główną wartością przedstawionej do recenzji dysertacji jest oparcie jej na artykułach opublikowanych w recenzowanych czasopismach posiadających wysoki współczynnik wpływu co samo w sobie jest dowodem na znaczenie naukowe analiz dokonanych przez Doktorantkę. Pierwszą z cyklu jest praca: Endovascular model of ischemic stroke in swine guided by real-time MRI opublikowana w 2020 roku (Scientific Reports 10(1) 17318). W ramach opisanych w niej doświadczeń Doktorantka udowodniła, że zamknięcie naczyń mózgowych u świni możliwe jest poprzez dotętnicze wstrzyknięcie trombiny proksymalnie do sieci naczyniowej (rete mirabile). Jednocześnie w ten sposób udało się wykazać, że wcześniejsze poglądy, sugerujące, że indukcja udaru u świń nie jest możliwa przy użyciu podejścia wewnątrznaczyniowego właśnie ze względu na obecność sieci naczyniowej, która

uniemożliwia wprowadzenie cewnika do naczyń mózgowych z następczym ich zablokowaniem były błędne. Co więcej, stosując wcześniej opisane przez współautorów metody endowaskularne z zastosowaniem rezonansu magnetycznego Doktorantce udało się prowadzić monitorowanie indukcji udaru w czasie rzeczywistym tym samym wywołując niedokrwienie z dużą powtarzalnością. Model ten ma unikalne cechy i przewagę nad innymi, istniejącymi modelami udaru niedokrwiennego u świń opartymi na kraniotomii. Usunięcie kości i naruszenie opony twardej powoduje zmiany ciśnienia wewnątrzczaszkowego zarówno ze względu na odbarczenie kostno-oponowe jak i związaną z zabiegiem utratę płynu mózgowo-rdzeniowego jednocześnie zwiększając ryzyko infekcji. Zwierzęta po udarze indukowanym metodą chirurgiczną często wymagają intensywnej opieki z powodu objawów innych niż deficyty neurologiczne związane z udarem a zastosowana przez Doktorantkę technika wewnątrznacyniowa będąc minimalnie inwazyjną w zasadzie wyklucza niezależną od udaru chorobowość i śmiertelność związaną z zabiegiem chirurgicznym.

W drugiej z publikacji, zatytułowanej: Intra-arterial transplantation of stem cells in large animals – a minimally-invasive strategy for the treatment of disseminated neurodegeneration (Scientific Reports, 2021, 11(1) 6581) mgr Gołubczyk udowodniła, że duże modele zwierzęce oparte o psy i świnię mogą z powodzeniem być wykorzystywane do analizy skuteczności systemów terapeutycznych opartych na pluripotentnych komórkach podawanych dotętniczo do ośrodkowego układu nerwowego. W ramach opisanych doświadczeń Doktorantka początkowo wykazała doskonały profil bezpieczeństwa procedury dotętniczego dostarczania glejowych komórek progenitorowych u psów a dzięki dynamicznemu monitorowaniu rezonansem magnetycznym w czasie rzeczywistym podczas infuzji komórek możliwe jest zobrazowanie procesu akumulacji komórek w mózgowiu, co umożliwia wczesną interwencję w przypadku wystąpienia nadmiernej akumulacji i zablokowania przepływu mózgowego. Co więcej, obrazowanie nie wykazało żadnych nieprawidłowości wskazujących na mikrokrwotoki lub udar mózgu bezpośrednio po przeszczepie lub nawet po kilku miesiącach obserwacji. Uzyskana akumulacja glejowych komórek progenitorowych w mózgu była jednak bardzo niska, dlatego też jako drugą klasę stosowanych komórek terapeutycznych Doktorantka wykorzystwała mezenchymalne komórki macierzyste, które są większe i dobrze znane ze swoich szeroko zakrojonych mechanizmów terapeutycznych i wysokiej ekspresji cząsteczek

adhezyjnych. Biorąc pod uwagę, wcześniej opisywane potencjalne trudności związane z przepływem w naczyniach mózgowych po dotętnicznym podaniu mezenchymalnych komórek macierzystych w pierwszej kolejności oceniono bezpieczeństwo metody na świniach. Nie zaobserwowano żadnych działań niepożądanych po przeszczepie, a akumulacja komórek w mózgu była lepsza niż akumulacja glejowych komórek progenitorowych. Wynik ten, oparty na dynamicznym obrazowaniu rezonansem magnetycznym, został dodatkowo potwierdzony przez badanie histologiczne, gdzie stwierdzono obecność mezenchymalnych komórek macierzystych w obszarach, które korelowały ze skanami rezonansu uzyskanymi w dniu podania. Autorka wykazała następnie, że zastosowanie przeszczepu dotętnicznego mezenchymalnych komórek macierzystych u psów z mielopatią degeneracyjną prowadzi do zmodyfikowanej ekspresji genów które mają kluczowe znaczenie w kontekście funkcji neuronalnej i glejowej oraz procesów neurodegeneracyjnych

Podsumowując, stwierdzam, że scharakteryzowany powyżej, jednotematyczny cykl publikacji Doktorantki wnosi istotny wkład do wiedzy z zakresu neurochirurgii, a zaplanowane, przeprowadzone i przeanalizowane przez Doktorantkę badania jak również będące ich efektem publikacje wskazują na to, że mgr Dominika Gołubczyk jest dojrzałym badaczem, potrafiącym dobrać ciekawy temat badawczy o dużym znaczeniu poznawczym i praktycznym. Zebrany materiał został w prawidłowy sposób przeanalizowany oraz stał się podstawą do wyciągnięcia prawidłowych, logicznych wniosków dzięki czemu Doktorantka mógł opublikować serię prac będących podstawą poniższej dysertacji. W związku z powyższym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Wydziału Lekarskiego, Collegium Medicum, Uniwersytetu Warmińsko- Mazurskiego w Olsztynie z wnioskiem o dopuszczenie mgr Dominiki Gołubczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy mgr Gołubczyk ze względu na jej duży potencjał aplikacyjny w przyszłych badaniach nad nowymi terapiami w schorzeniach ośrodkowego układu nerwowego.

