

Wrocław, 10.05.2016

Dr hab. Jakub Nicpoń

Katedra i Klinika Chirurgii

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Ocena rozprawy doktorskiej lekarza weterynarii Iwony Starchewskiej pt „Wpływ kwasu hialuronowego na przebieg ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej u świni, wywołanej urazem termicznym.”

Oparzenia u ludzi a także u zwierząt, jakkolwiek nie stanowią ze względu na częstość występowania wielkiego problemu, stanowią ogromne zagrożenie dla dalszego zdrowia a bardzo często i życia. Zmiany, zarówno miejscowe jak i ogólnoustrojowe, jakie zachodzą w organizmie są bardzo zróżnicowane, rozległe, skomplikowane i zmieniają się bardzo dynamicznie. Możliwości leczenia zależą w dużej mierze od szybkości ich precyzyjnego rozpoznania by podjąć prawidłowe i skuteczne leczenie.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska liczy 127 stron wydruku komputerowego, w tym 14 stron piśmiennictwa (207 pozycji) głównie w języku angielskim. Praca zawiera 44 ryciny i 10 tabel. Całość przedstawia typowy układ dla tego rodzaju pracy. Najobszerniejszą część stanowi wstęp – 40 stron. Cel pracy przedstawiono na jednej stronie, materiał i metody na 5 stronach, wyniki na 34 stronach, gdzie znajdują się 34 ryciny i 9 tabel, oraz dyskusję na 9 stronach.

Praca zawiera wykaz skrótów, spis tabel i rycin oraz streszczenie w języku polskim i angielskim.

Analizując poszczególne rozdziały, daje się zauważyć pewną dysproporcję w ich objętości a przede wszystkim pomiędzy obszernym wstępem a dyskusją.

We wstępie doktorantka szczegółowo omawia ogólną charakterystykę oparzeń, oparzenia termiczne a miejscową reakcję zapalną, oparzenia termiczne a reakcje układowe, oparzenia termiczne a mediatory ostrej fazy, kwas hialuronowy – charakterystykę i funkcję w organizmie, rolę kwasu hialuronowego w procesach zapalnych. W rozdziale tym doktorantka używa wielu skrótów, których nie ma w wykazie używanych skrótów. Na stronie 28 podano pozycję piśmiennictwa nr 294, na stronie 41 pozycje nr 214, 249, natomiast wykaz obejmuje tylko 207 pozycji. Zacytowana pozycja nr 116 nie dotyczy jak podano w treści autora Lampreave i in lecz Kostro K. i Gliński Z.

Kilkanaście błędów stylistycznych i literowych zostało poprawione w przekazanym do oceny egzemplarzu.

Doktorantka używa nieprecyzyjnych określeń jak chociażby gromadzenie się wody w płucach winno być płynu (str. 33) czy str. 32 zmniejszających tachykardię winno być częstość rytmu. co oznacza zmniejszanie termogenezy str 32? str. 44 poziom albumin winno być stężenie albumin.

Cel pracy

Celem badań było wykazanie wpływu egzogennych wielkocząsteczkowych molekuł kwasu hialuronowego na:

- ekspresję zapalenia w aspekcie zmiany stężenia czynnika martwicy nowotworu (TNF α), interleukiny 1 β oraz białek ostrej fazy (BOF)
- stężenia oznaczanych w badaniu składowych nieenzymatycznego systemu zmiataczy wolnych rodników oraz zachowanie funkcji wątroby w stanie stresu u świń z oparzeniami stopnia IIb i III będących w początkowej fazie zespołu ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej.

Rozdział 4 Materiał biologiczny i metodyka badań

Materiałem doświadczalnym były świny rasy Wielka Biała Zwisłoucha. Na eksperyment uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej. Doktorantka pisze, że do badań pobrano po 5 surowic z każdej z trzech grup (I grupa – surowica zwierząt oparzonych, grupa II – surowica zwierząt, którym po oparzeniu podano kwas hialuronowy, grupa III – surowica świń bez urazu termicznego), nie podaje jednak od ilu sztuk świń. Można się domyślać, że każda z grup liczyła 5 świń. Doktorantka nie podaje jakie zastosowano oparzenie, czym wywołano, jaką obejmowało powierzchnię, skąd pobierano krew, jaką drogą podano kwas hialuronowy w postaci bolusa. We krwi wykonano badania morfologiczne zwracając szczególną uwagę na liczbę czerwonych krwinek i wartość hematokrytu, oraz badania biochemiczne w surowicy krwi, w którym oznaczano stężenie mocznika, stężenie kwasu moczowego, stężenie bilirubiny całkowitej, stężenie albumin, haptoglobiny, stężenie białka C-reaktywnego oraz stężenie wybranych cytokin prozapalnych TNF α oraz IL-1 β . Doktorantka pisze o badanych surowicach a przecież badania hematologiczne musiały być oznaczane w krwi pełnej.

Wszystkie oznaczenia wykonywane są nowoczesną aparaturą z zastosowaniem powszechnie uznanych metod. Zastosowana metoda statystyczna z testem T-studenta nadaje się do wyliczeń dla dwóch grup. Test dla 3 grup z małą liczbą zwierząt w grupie nie jest najlepszym testem statystycznym. Należałoby zastosować test ANOVA.

W rozdziale 5 wyniki doktorantka przedstawiła rozrzuty parametrów klinicznych takich jak liczba oddechów, ciepłota ciała oraz liczba uderzeń serca na minutę po 6 godzinach od wykonania oparzenia. Następnie podane zostały wyniki poszczególnych oznaczeń w 0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72, 78 i 84 godzinie. Wyniki te zostały przedstawione zarówno w tabelach jak i na wykresach (rycinach).

Autorka w opisie wykresów od 9 do 15 używa prawidłowych określeń „stężenie”, natomiast w opisie tabel od nr 3 do nr 10 podaje „wartość” zamiast „stężenie” badanych parametrów. Na

kolejnych 28 rycinach doktorantka przedstawia wykresy rozrzutu i współczynniki korelacji pomiędzy badanymi parametrami.

W opisie tab. 1 i Ryc. 7 winno być nie wartość Ht ale liczba hematokrytowa natomiast w tab. 2 i ryc. 8 należy zmienić wartość RBC na liczbę krwinek czerwonych (RBC). Szkoda, że doktorantka nie podała w tabelach oprócz średniej także odchyłeń standardowych.

W rozdziale Dyskusja, doktorantka podjęła się porównania otrzymanych wyników z uzyskanymi przez innych autorów. Wykazała, że wskutek oparzenia następuje spontaniczny stały wzrost stężeń TNF- α i IL-1 β w obu grupach badawczych. I tak stężenie TNF- α istotnie wzrosło do 60 godzin, zaś stężenie IL-1 β do 66 godzin w stosunku do stężenia w surowicy krwi świń grupy kontrolnej. Czterokrotny wzrost stężenia TNF- α w 24 godzinie i dwukrotny IL-1 β w 24 godzinie był skutkiem rozwijającego się zespołu uogólnionej odpowiedzi zapalnej. Wyniki te były podobne do otrzymanych przez Dahiya. Wyniki uzyskane przez doktorantkę pozwoliły udowodnić zależność pomiędzy zmianą stężeń IL-1 β i TNF- α w surowicy badanych świń. Doktorantka wykazała również, że wzrost stężenia IL-1 β i TNF- α w grupie zwierząt oparzonych (o) był szybszy niż w grupie zwierząt, które po oparzeniu miały podawany kwas hialuronowy (OHA), jak również wartości stężeń w grupie zwierząt oparzonych utrzymywały się na wyższych poziomach. Uzyskane wartości wskazują na wpływ egzogenego kwasu hialuronowego na ekspresję badanych cytokin. Autorka wskazała także, że istnieją wyraźne zależności pomiędzy kształtowaniem się i zmiennością stężenia cytokin zapalnych TNF- α oraz IL-1 β i zmianą stężeń białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy świń po oparzeniu. W badaniach wykazano również, że przez cały czas trwania eksperymentu stężenie haptoglobiny (Hp) w grupach świń oparzonych i świń oparzonych, które otrzymywały kwas hialuronowy, były statystycznie istotnie wyższe w stosunku do świń z grupy kontrolnej. Doktorantka w swoich badaniach stwierdziła istotny spadek albumin przy rosnącym stężeniu cytokin prozapalnych. Wykazała także, że w obu grupach świń oparzonych i oparzonych otrzymujących kwas hialuronowy występowała stała tendencja spadkowa w trakcie przeprowadzanego eksperymentu. Jednak spadek wartości był mniejszy i bardziej powolny w grupie świń, które po oparzeniu otrzymywały kwas hialuronowy. W oznaczeniach stężeń bilirubiny całkowitej, mocznika i kwasu moczowego, tzw. zmiataczy wolnych rodników, doktorantka wykazała dodatnią korelację pomiędzy stężeniami bilirubiny i kwasu moczowego oraz to, że kwas hialuronowy miał istotny wpływ na zachowanie się spadku wartości bilirubiny i kwasu moczowego oraz kształtowanie się poziomu mocznika co świadczy o ograniczeniu przez kwas hialuronowy reakcji wolnorodnikowych.

Wyniki badań przeprowadzonych przez doktorantkę wykazały modulacyjny/modulujący wpływ kwasu hialuronowego na zmianę stężeń wybranych mediatorów reakcji zapalnej oraz kształtowanie odpowiedzi ostrej fazy (BOF)

W rozdziale 7 wnioski doktorantka na podstawie przeprowadzonych badań postawiła 5 w pełni udokumentowanych wniosków. Należałoby jednak zmienić w ostatnim wniosku określenie „są istotniejsze” na „są statystycznie bardziej istotne” lub „różnią się w większym stopniu”

Reasumując ocenę całokształtu dysertacji, pragnę podkreślić trafność i przydatność tematu. Przeprowadzone badania mają duże znaczenie poznawcze jak i aplikacyjne, zostały wykonane zgodnie ze standardami prac doktorskich.

Stwierdzam że Pani lekarz weterynarii Iwona Starczewska spełniła kryteria upoważniające mnie do wystąpienia o nadanie stopnia doktora nauk weterynaryjnych zgodnie z wymogami art. 16 ustawy z 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. U. nr 65 pozycja 595, z późniejszymi zmianami). Stawiam więc wniosek o dopuszczenie lek. wet. Iwony Starczewskiej do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

dr hab. Jakub Mępoń
LEKARZ WETERYNARII
Specjalista Chirurg
tel. 601 927 239

85110