



# UNIwersytet Medyczny IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Analityki Medycznej

Zakład Chemii Klinicznej

Zakład Hematologii Laboratoryjnej

*Kierownik Katedry*

*Prof. dr hab. Mieczysław Woźniak*

*Wasz znak:*

*Nasz znak: wf 1 / 100 / 2016*

*Data: 10.02.2016 r.*

## OCENA

rozprawy doktorskiej lek. medycyny Anny Radomskiej : „Mechanizmy agregacji płytek krwi: rola tkankowego inhibitora metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej-4 (TIMP-4) i nanocząsteczek węgla”

Rozprawa doktorska dr Anny Radomskiej przygotowana pod kierunkiem dr hab. Jarosława Leszczyszyna jest opracowaniem dotyczącym wyjaśnienia mechanizmów regulacji procesu aktywacji i agregacji płytek krwi oraz możliwości modulacji tego procesu przy pomocy nanocząsteczek węgla.

Założenie przedstawionej rozprawy doktorskiej jest interesujące z teoretycznego i praktycznego mając na uwadze że proces aktywacji i agregacji płytek krwi jest przedmiotem zainteresowania wielu dziedzin praktycznej i eksperymentalnej medycyny.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska posiada układ nietypowy dla tego typu opracowań ponieważ składa się z dwóch publikacji eksperymentalnych i dwóch publikacji przeglądowych poprzedzonych obszernym wstępem, opisem badań oraz dyskusją i wnioskami w języku polskim i angielskim. Przedstawiając własne opinie i uwagi recenzent ma świadomość że ewentualne uwagi i komentarze recenzenta dotyczące opublikowanych wyników badań zostały poprzedzone wnikliwymi recenzjami 2 -3 recenzentów w wypadku każdej z przedstawionych publikacji przyjętych do druku w prestiżowych czasopismach

naukowych – British Journal of Pharmacology i Advances in Clinical and Experimental Medicine.

We wstępie doktorantka przedstawiła ogólną charakterystykę procesu hemostazy a następnie opisała budowę oraz rolę płytek krwi w procesie hemostazy w warunkach fizjologicznych i patologii. W następnych rozdziałach wstępu doktorantka przedstawiła biologiczną rolę metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej ze szczególnym uwzględnieniem płytek krwi. Recenzent uważa iż stwierdzenie że płytki krwi zawierają zarówno MMP-2 jak i MMP-9 powinno być skorygowane ponieważ badania nad MMP w płytkach krwi przy zastosowaniu wieloetapowego procesu izolacji płytek krwi wykazało iż MMP-9 pochodzi głównie z zanieczyszczenia leukocytami preparatów płytek krwi (str.9). We wstępie doktorantka bardzo lakonicznie wspomina o nanocząsteczkach ale jest to zrozumiałe ponieważ dwie publikacje przeglądowe będące częścią rozprawy doktorskiej bardzo szczegółowo podejmują ten temat.

Sformułowanie celu pracy, opis badanej grupy ochotników, sposobu pobierania i opracowania materiału biologicznego, zastosowana metodyka badań oraz użyte metody analizy statystycznej wyników zostały jasno przedstawione. Wyniki badań oraz ich interpretacja zostały dobrze opisane a także rzeczowo przedyskutowane zarówno w obszernym autoreferacie jak i w załączonych publikacjach.

Recenzent wyraża uznanie dla wiedzy i pracowitości doktorantki która zastosowała wiele nowoczesnych technik badawczych mających zastosowanie w biochemii i cytologii oraz na prawidłowy wybór najnowszego piśmiennictwa dotyczącego badanych zagadnień.

Z przedstawionych wyników badań bardzo istotne wydaje się być stwierdzenie iż specyficzny inhibitor metaloproteinaz TIMP-4 występuje obok MMP-2 w płytkach krwi, preparaty cytologiczne wskazują na kolokalizację proteazy i jej inhibitora wewnątrz płytek natomiast nie stwierdziła powstawania trwałego kompleksu MMP-2:TIMP-4 wewnątrz płytek krwi. W procesie aktywacji płytek krwi wydzielany jest do otoczenia zarówno TIMP-4 jak i MMP-2 przy czym w przypadku MMP-2 etapem pośrednim jest pojawienie się MMP-2 na powierzchni płytek krwi. Doktorantka udowodniła iż TIMP-4 bierze udział w procesie aktywacji i agregacji płytek krwi skoro rekombinowany TIMP-4 wykazywał działanie antyagregacyjne.

Następnym etapem szeregu eksperymentów było zbadanie wpływu naturalnych i syntetycznych nanocząsteczek węgla na proces aktywacji i agregacji płytek krwi. Okazało się

że zarówno naturalne jak i syntetyczne nanocząsteczki węgla działają proagregacyjnie z wyjątkiem sferoidalnych cząsteczek C60CS. Okazało się że zarówno naturalne nanocząsteczki węgla jak i nanorurki węglowe wpływały na ekspresję receptorów GP Ib, GP IIb/IIIa jak i P-selektyny na powierzchni płytek krwi. Obserwacja ta dowodzi że odpowiednio ukształtowane nanocząsteczki węgla mogą pełnić rolę ligandów aktywując receptory na powierzchni płytek krwi.

Artykuły poświęcone nanocząsteczkom przedstawiają aktualną wiedzę na ten temat. Istotnym wydaje się podniesienie zagadnienia biogodności i potencjalnej toksyczności nanocząsteczek szczególnie węglowych lub krzemowych gdzie proces ich biodegradacji lub kumulacji w tkankach wymaga jeszcze wielu badań.

Uwagi i zastrzeżenia recenzenta nie wpływają na pozytywną ocenę przygotowania rozprawy od strony teoretycznej jak i eksperymentalnej i mogą być łatwo wyjaśnione i skorygowane w trakcie obrony rozprawy doktorskiej oraz przygotowania rozprawy do druku. Stwierdzam zatem że przedstawiona mi rozprawa doktorska pt. "Mechanizmy agregacji płytek krwi: rola tkankowego inhibitora metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej-4 (TIMP-4) i nanocząsteczek węgla" spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim i wnioskuję o dopuszczenie lek. medycyny Annę Radomską do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
KATEDRA ANALITYKI MEDYCZNEJ  
Kierownik  
*M. Wozniak*  
prof. dr hab. Mieczysław Wozniak