

Akceptuję
H. H.

Warszawa, 09.02.2026

Anna Członkowska

II Klinika Neurologii

Instytut Psychiatrii i Neurologii

Warszawa

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

lek. med. Krzysztofa Hadriana

Tytuł : Charakterystyka biochemiczna mysiego modelu choroby Wilsona

Promotor: Prof. dr. Hab. Med. Adam Przybyłkowski

Choroba Wilsona jest schorzeniem uwarunkowanym genetycznie, dziedziczonym w sposób autosomalno recesywny, prowadzącym do zaburzenia metabolizmu miedzi. W wyniku mutacji w genie atepazy 7B (ATP7B) dochodzi do upośledzenia metabolizmu miedzi w wątrobie. Niedobór enzymu ATP7B prowadzi do upośledzonego wydalania miedzi z wątroby, nadmiernego odkładania się jej w tym narządzie, jej uszkodzenia oraz przedostawania się do krwioobiegu miedzi niezwiązanej z ceruloplazminą. Wolna miedź przedostaje się do krwioobiegu, odkłada się w wielu narządach, ale największe jej gromadzenie obserwuje się w rogówce i mózgu. Nadmiar miedzi prowadzi do całej kaskady zmian biochemicznych w tkankach. Tak więc głównymi klinicznymi objawami choroby jest uszkodzenie wątroby, pierścień Kaysera-Fleischera w rogówce i objawy neurologiczne, ale zmiany obserwowane są w wielu innych narządach. Od lat 60. ubiegłego stulecia dostępne jest leczenie tej choroby albo lekami chelatującymi (d-penicylaminą, trientyną) lub solami cynku. Obniżają one stężenie miedzi w tkankach. Wczesna diagnostyka choroby i systematyczne leczenie w większości przypadków przynosi dobry efekt kliniczny. Jak zwykle w medycynie rzadka jest doskonałość, tak więc głębsze poznanie zaburzeń metabolicznych choroby, ich dynamiki i nasilenia w różnych narządach może przyczynić się to jeszcze korzystniejszych efektów.

Temu służą jak we wielu chorobach modele zwierzęce. Podjęcie więc badań dotyczących zaburzeń metabolicznych i obrazu klinicznego ch. Wilsona w modelu zwierzęcym choroby jest jak najbardziej słuszne.

Rozprawa doktorska liczy 116 stron, w układzie klasycznym. Wstęp 26 stron, wykaz używanych skrótów ma 2 strony, a liczba tabel wynosi 34, wykresów 32, są też 3 „mapy” mózgów. Piśmiennictwo 169 pozycji.

Główne wyniki pracy zostały też opublikowane z nazwiskiem doktoranta na pierwszym miejscu w pracy w języku angielskim „Effect of primary copper metabolism disturbances on elemental, protein, and lipids composition of the organs in Jackson toxic milk mouse” w czasopiśmie Biometals, 2025,

38,103-121. Ta praca, pomogła mi w wyjaśnieniu niektórych kwestii nie podanych w maszynopisie doktoratu. Recenzuje dotyczy jednak tylko pracy doktorskiej.

We wstępie dokładnie omówiona jest rola ATPazy w patogenezie choroby, główne objawy kliniczne choroby (nazywanie nie wiem czy prawidłowo manifestacjami klinicznymi), diagnostyka choroby i leczenie. Szczegółowo omówione są modele doświadczalne choroby u zwierząt (myszy, szczury, psy), wywołane mutacjami w genach homologicznych do ATPazy 7B u ludzi. Najdokładniej jest omówiony model, który był badany w obecnej pracy tj. TxJ.

Cel pracy sformułowany jest bardzo lakonicznie w dwóch punktach:

1. Analiza zmian biochemicznych u myszy txJ
2. Analiza wpływu płci na przebieg choroby u myszy txJ.

Nie ma tradycyjnie podawanych w doktoratach celów szczegółowych i uzasadnienia celowości badań.

Rozdział materiał i metody.

Hodowla myszy txJ i kontrolnych prowadzona była w Zwierzętni Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Opis hodowli jest wystarczający.

Do badań włączono 61 myszy txJ oraz 81 kontrolnych, podzielonych na 4 grupy wiekowe 2, 4, 8 i 14 tygodni, przy założeniu stosunku płci 1:1. Dokładnie opisana jest procedura hodowli.

Autor pisze, że w separowane tkanki były zamrażane. *Czy całe narządy np. serce, dwunastnica, gałka oczna?, czy jakiś fragment?. Kiedy i kto separował prążkowe przed czy po zamrożeniu?*

Skład pierwiastkowy był badany metodą TXFR (total reflexion X-ray fluorescence - pomiaru całkowitego odbicia promieniowania rentgenowskiego), która jest uznaną metodą do pomiaru pierwiastków (głównie metali) w skrawkach tkanek trawionych kwasem.

Skład biochemiczny tkanek badany był metodą FTIR- Furnierowskiej spektroskopii w podczerwieni, Badano zmiany w składzie białek i lipidów w tkankach.

Mikro obrazowanie FTIR i u-XRF służyło do badania rozkładu przestrzennego badanych elementów metali i innych składników biochemicznych.

Z pracy doktorskiej nie można się dowiedzieć gdzie i przez kogo były wykonane te oznaczenia. Z publikacji pracy można się domyśleć, że w AGH, w Zakładzie Fizyki i Biofizyki w Krakowie przez Magdalenę. Szczerbowską-Boruchowską i Andrzeja. Surówkę.

Przeprowadzono też nieco prostsze badania z krwi badanych zwierząt jak: oznaczenie stężenia ceruloplazminy, testy funkcji wątroby (AST, ALT, ALP, bilirubiny, stężenie albuminy) i neurofilamentów. *Tu też nie wiadomo w doktoracie gdzie wykonywano badania.* Dopiero z publikacji wiadomo, że w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Warszawie – przez Olgę Cieplą. W publikacji stężenie ceruloplazminy jest w IU/L, a w doktoracie g/L.

W doktoracie na str.49 o oznaczeniu ceruloplazminy mamy podrozdział: Aktywność ceruloplazminy, który zaczyna się od słowa Stężenie ceruloplazminy określano...*Czy więc badano stężenie czy*

aktywność? Są dwie metody oznaczania ceruloplazminy: pomiar stężenia białka i aktywność oksydacyjną ceruloplazminy. W obecnej pracy i w laboratorium WUM stosują metodę enzymatyczną, z której można obliczyć i stężenie w g/L i w IU/L. Raczej powinno by Stężenie ceruloplazminy w surowicy oceniano na podstawie aktywności enzymatycznej enzymatycznej. Metoda ta jest uznawana jako lepszą niż pomiar ilościowy białka.

Wyniki opublikowane są na 45 stronach, zawierają 34 tabele i 32 wykresy. Są niesłychanie trudne do prześledzenia. Na pewno doktorant dokonał dużej pracy aby je podsumować, ustawiać w tabele i wykresy i przeprowadzić ich statystkę.

Zdecydowanie brakuje podsumowania wyników.

W największym skrócie: podwyższone stężenie miedzi obserwowano najwyraźniej w wątrobie, prądkowi, dwunastnicy, oku, sercu we wszystkich grupach wiekowych. Spośród wielu badanych innych pierwiastków (15-tu) największy wzrost dotyczył wapnia. Zarówno w wątrobie jak i w prądkowiu obserwowano zaburzenia metabolizmu tłuszczu i struktury białek. Obserwowano też różnice w przebiegu klinicznym choroby pomiędzy samicami i samcami.

Obserwowane zmiany omówione są dokładnie w odniesieni literatury i zmian obserwowanych u ludzi. *Autor nie wypowiada się, które z tych zmian będą celem obserwacji, przy testowaniu nowych podejść terapeutycznych w ch.W.*

Wnioski są adekwatne do wykonanych badań.

Rozprawa doktorska lek.med. Krzysztofa Hadriana przedstawia oryginalne badania. Kandydat wykazał ogólną wiedzę teoretyczną oraz umiejętność samodzielnego przeprowadzenia analizy i interpretacji wyników uzyskanych przez zespół (ty) wyników. Przedstawione w niniejszej recenzji uwagi wynikają raczej z niedopatrzeń redakcyjnych. Moje uwagi wymagające odpowiedzi oznaczone są w recenzji kursywą.

Praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim zawartym w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce(DZ.U. 2018, poz. 1668). Stawiam wniosek do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o przyjęcie niniejszej rozprawy i dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony.

Anne Cichonowicz

- 10.02.2020

