

*Wider
M. Szwed
07.06.18*

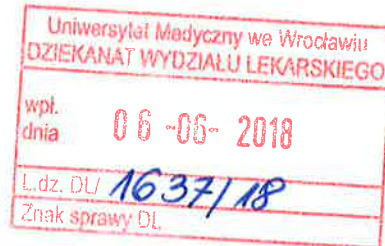


Instytut Farmakologii
Polskiej Akademii Nauk

INSTYTUT FARMAKOLOGII
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
ul. Smętna 12
31-343 Kraków
Dyrektor
telefon: (12) 662 32 96
(12) 637 48 93

Centrala
telefon: (12) 662 32 20
(12) 637 40 22
fax: (12) 637 45 00
e-mail: ifpan@if-pan.krakow.pl
www.if-pan.krakow.pl

Dr hab. Krzysztof Tokarski
Zakład Fizjologii
Instytut Farmakologii
Polskiej Akademii Nauk
ul. Smętna 12
31-343 Kraków



Kraków 30. 05. 2018

OCENA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Darii Nowak pt.:

“Rola metaloproteinazy 3 w procesach neuroplastyczności na poziomie funkcjonalnym i strukturalnym hipokampa myszy”.

INSTYTUT FARMAKOLOGII
Polskiej Akademii Nauk
ul. Smętna 12, 31-343 Kraków
tel.: 12 662 32 20, fax: 12 637 45 00

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) to wielodomenowe enzymy proteolityczne zawierające jony cynku w centrum aktywnym. Wydzielane są w postaci proenzymu (pro-MMPs) i ulegają aktywacji pozakomórkowo lub wiążą się z błonami komórkowymi. Pierwszą poznaną MMP była kolagenaza 1, odkryta w tkankach ogona kijanki podczas metamorfozy. Początkowo MMP opisywane były jako enzymy zdolne do degradowania jedynie kolagenu. Obecnie wiadomo, że enzymy te mają zdolność do degradacji białek budujących błony podstawne oraz macierz zewnątrzkomórkową co umożliwia przebudowę tkanek oraz przemieszczanie się komórek, zarówno w przebiegu procesów fizjologicznych, stanów zapalnych, jak i chorób nowotworowych. Do substratów MMP należą cytokiny, czynniki wzrostu, białka ostrej fazy, proenzymy oraz białka biorące udział w przekazywaniu sygnałów i apoptozie, dzięki czemu MMP uczestniczą w odpowiedzi zapalnej, proliferacji, apoptozie i migracji komórek. Stwierdzono, że enzymy te odgrywają istotną rolę w wielu procesach zarówno fizjologicznych, takich jak embriogeneza, gojenie ran, angiogeneza, jak i patologicznych m.in. w chorobach sercowo-naczyniowych, artretyzm, choroby nowotworowe czy też choroby neurodegeneracyjne. W ostatnich latach odkryto również ich działanie w czasie rozwoju układu nerwowego oraz podczas procesów naprawczych zarówno w obwodowym jak i ośrodkowym układzie nerwowym. Wykazano m.in., że metaloproteinazy uczestniczą w neurogenezie. Ich proteolityczne działanie ujawnia się przy wydłużaniu wypustek neuronu, a przez interakcję z receptorami odpowiedzialnymi za naprowadzenie wpływają na ukierunkowanie wydłużającego się aksonu. Prowadzone badania dowiodły, że metaloproteinazy np. MMP-2, MMP-3, MMP-9 pełnią rolę w mózgu w procesach formowania plastyczności synaptycznej wiązanych z tworzeniem się śladów pamięciowych.

Metaloproteinazy dzielimy obecnie na 28 grup, ciągle poznajemy ich nowe właściwości, funkcje oraz znaczenie w rozlicznych procesach przebiegających od momentu implantacji zarodka do śmierci organizmu. Wiemy także, że modulowanie ich funkcji może być w przyszłości obiecującym sposobem terapii chorób i zaburzeń rozwojowych. W tym kontekście prowadzone przez Panią mgr Darię Nowak badania rolą metaloproteinazy 3 są z całą pewnością aktualne i posiadają silny charakter aplikacyjny.

Praca doktorska pt. "Rola metaloproteinazy 3 w procesach neuroplastyczności na poziomie funkcjonalnym i strukturalnym hipokampa myszy" to rezultat eksperymentów mających na celu określenie roli enzymów z grupy 3 metaloproteinaz w zjawiskach plastyczności

synaptycznej. W szeregu badań z użyciem metod obrazowania, technik Western blot i technik rejestracji elektrofizjologicznej aktywności komórek nerwowych autorka pracy wykazuje, że indukcja długotrwałego wzmocnienia jak również długotrwałego osłabienia synaptycznego w obszarze CA1 hipokampa prowadzi do zwiększenia aktywności metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej 3. Zaobserwowane zmiany w poziomie badanego enzymu dotyczą zarówno transmisji pobudzającej jak i hamującej. Wyniki te sugerują funkcję MMP3 w formowaniu plastyczności synaptycznej zarówno w przypadku przekąźnictwa glutaminianergicznego jak i GABAergicznego.

Nie chcąc powtarzać informacji zawartych w rozprawie (które zapewne doktorantka przedstawi w czasie obrony) moja recenzja skupi się tylko na najważniejszych pozytywnych oraz negatywnych aspektach tej rozprawy

Wszelkie informacje potrzebne do wdrożenia się w temat badań zawarte są w bardzo dobrze napisanym obszernym wstępie. Wiedza przekazana jest w sposób konkretny i klarowny, bez niejasności czy skrótów myślowych. W połączeniu z niezwykle przystępnie opisaną metodologią, zarówno od strony opisu stosowanych technik, jak i wyjaśnienia metod analizy, praca nadaje się do lektury nawet przez odpowiednio zdeterminowanego, ale nie mającego nic wspólnego z neurobiologią laika.

Cel pracy i wybór zadań badawczych został jasno i zwięźle przedstawiony oraz bardzo dobrze uzasadniony. Autorka w kompetentny sposób uzasadniła zarówno stosowaną metodologię jak i rodzaj planowanych badań.

Wykonanie doświadczeń, opracowanie wyników nie budzi zastrzeżeń i wskazuje na bardzo dobre przygotowanie (zarówno praktyczne jak i teoretyczne) i duży wkład pracy doktorantki.

Dyskusja została napisana w sposób zrozumiały i jasny. Uzyskane wyniki zostały w większości zinterpretowane i przedyskutowane w sposób wyczerpujący w oparciu o najnowszy stan wiedzy w badanym temacie. Pracę zamyka zwięźle podsumowanie uzyskanych rezultatów w kontekście aktualnego stanu wiedzy.

Pewien niedosyt pozostawiło u mnie dość oszczędne przedyskutowanie stwierdzonego braku wpływu metaloproteinazy 3 na zależne od receptorów NMDA długotrwałe osłabienie synaptyczne w hipokampie. Jeżeli można to chciałbym otrzymać trochę bardziej wyczerpujący komentarz doktorantki na temat wyżej wymienionych wyników.

Praca jest bardzo dobra pod względem metodologicznym i merytorycznym. Pani mgr Nowak z powodzeniem wykorzystuje w swojej pracy szeroki wachlarz zaawansowanych technik badawczych, użytych w bardzo konkretnym celu. Nie ma tutaj nieprzyjemnego wrażenia, że techniki zostały użyte są dla samego efektu "wow", co jest niestety częste w dzisiejszych badaniach. Każda użyta metoda, mniej lub bardziej nowoczesna, ma pełne uzasadnienie i jest zaadaptowana do projektu, a nie odwrotnie.

Poza pozytywnymi wrażeniami dotyczącymi strony merytorycznej, stwierdzam, że praca została przygotowana i złożona bardzo profesjonalnie. Wszędzie widoczna jest dbałość o szczegóły, co dodatkowo przyczynia się do pozytywnego odbioru całości. Doskonałej jakości grafiki przygotowane są bez zarzutu i w sposób bardzo czytelny.

Z obowiązku recenzenta muszę także nadmienić pewne negatywne elementy rozprawy Pani mgr Darii Nowak. Wyniki uzyskane przez doktorantkę z całą pewnością są bardzo ciekawe ale tego typu charakterystyka otrzymanych wyników jak dla mnie brzmi zbyt subiektywnie i pojawia się w rozprawie zdecydowanie za często.

Biorąc pod uwagę wartość poznawczą pracy, jej oryginalność oraz potencjalne implikacje kliniczne uważam, że oceniana przeze mnie rozprawa zatytułowana "**Rola metaloproteinazy 3 w procesach neuroplastyczności na poziomie funkcjonalnym i strukturalnym hipokampa myszy**" spełnia wszystkie warunki określone w art. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.), wymagane dla pracy doktorskiej i przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pani mgr Darii Nowak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Krzysztof Tokarski

