

Łódź, dnia 27 września 2023

Dr hab. Anna Pieniążek
Katedra Biologii Nowotworów i Epigenetyki
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytetu Łódzkiego

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Natalii Trochanowskiej-Pauk,
z tytułem
„Metoda przedłużania czasu przechowywania płytek krwi”
realizowanej w Katedrze Inżynierii Biomedycznej, Wydziału Podstawowych Problemów
Techniki Politechniki Wrocławskiej

Krew i jej składniki są od wielu lat stosowane jako środki lecznicze, a transfuzja krwi jest jedną z najczęstszych procedur wykonywanych u pacjentów w szpitalu. Rozwój medycyny transfuzyjnej doprowadził do wzrostu znaczenia tej dziedziny hematologii. Głównym jej celem jest zabezpieczenie odpowiednich dostaw krwi i produktów krwiopochodnych oraz zapewnienie ich prawidłowego przechowywania i wykorzystania. Koncentraty krwinek płytkowych (KKP) stosuje się w celu zmniejszenia lub zapobiegania krwawieniom u chorych z małopłytkowością, wynikającą głównie z niedostatecznej ich produkcji w szpiku lub z zaburzeń funkcjonowaniu krwinek płytkowych. Niestety, jak napisała Doktorantka w jednym z rozdziałów, w Polsce jak i na świecie zatrważająca ilość pobranych koncentratów krwinek płytkowych poddawana jest utylizacji tylko ze względu na przekroczenie czasu przydatności do użycia. Ponadto ze względu na krótki czas życia i wysoką wrażliwość płytek krwi, poszukiwanie i wdrażanie nowych metod przechowywania koncentratów tych komórek jest niezwykle istotnym wyzwaniem stawianym naukowcom.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w formie monografii liczącej 163 strony wraz z załącznikami. Praca ma typowy układ dla tego typu dysertacji. W jej skład wchodzi bardzo obszerny wstęp literaturowy, teza, cel i zakres prac, rozdział dotyczący wykorzystanych materiałów i metod badawczych, opis wyników, dyskusja, wnioski i spis bibliograficzny liczący 222 pozycje.

We wstępie Doktorantka scharakteryzowała płytki krwi, wymieniła medyczne wskazania do przetaczania koncentratów płytkowych oraz opisała sposoby ich pozyskiwania i przechowywania. Omówione zostały również leki przeciwplatekcyjne oraz mechanizmy działania promieniowania od czerwonego do bliskiej podczerwieni (R/NIR) na komórki.

Celem przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej było opracowanie nowej metody przechowywania krwinek płytkowych przy zastosowaniu tikagreloru i promieniowania elektromagnetycznego z zakresu bliskiej podczerwieni. Tikagrelor jest przedstawicielem grupy leków przeciwplatekcyjnych, działającym niekompetycyjnie jako inhibitor receptorów P2Y₁₂, znajdujących się na powierzchni płytek krwi. Jego działanie polega między innymi na blokowaniu agregacji płytek krwi. Z kolei promieniowanie z zakresu bliskiej podczerwieni (NIR) oraz promieniowanie od czerwonego do bliskiej podczerwieni (R/NIR) coraz częściej stosowane jest w celach terapeutycznych jako stymulator procesów gojenia ran, w zapobieganiu martwicy tkanek jak i poprawy przepływu krwi i dotlenienia tkanek. W związku z tym, wybór obu czynników, tikagreloru i promieniowania NIR w celu wydłużenia czasu przechowywania krwinek płytkowych z zachowaniem ich prawidłowego funkcjonowania, wydaje się być jak najbardziej zasadny.

Rozdział dotyczący metod badawczych został przygotowany w sposób przejrzysty. Opisano w nim sposób przygotowania naświetlacza R/NIR, testy odłączania triaglelu od płytek krwi oraz badanie wpływu połączonego działania leku i R/NIR. W tej części zawarto także opis metod, które Doktorantka zastosowała do badania skuteczności opracowanej metody stosowania leku i promieniowania podczas 8-dniowego czasu przechowywania koncentratów krwinek płytkowych.

W rozdziale dotyczącym wyników Doktorantka w systematyczny sposób opisała uzyskane rezultaty badań, które zaprezentowała w postaci wykresów, tabel i zdjęć. Każdy z etapów badań został zakończony krótkim podsumowaniem. Autorka przeprowadziła także dyskusję rezultatów swoich badań z innymi opublikowanymi doniesieniami. Na końcu zawarła 6 wniosków oraz konkluzję.

Na uwagę zasługuje dobrze zaplanowany model badaczy. Doktorantka przygotowała stanowisko napromiennika NIR z programatorem czasowym, gdzie sprawdzała przepuszczalność worka do przechowywania koncentratów krwinek płytkowych, dla promieniowania z zakresu R/NIR. Przeprowadziła badania dotyczące możliwości przywrócenia funkcji agregacyjnych płytek krwi pobieranych różnymi metodami i zawieszonych w osoczu bądź w płynie wzbogacającym osocze. Kolejnym etapem było

matematyczne modelowanie farmakokinetyki tikagreloru w koncentratkach krwinek płytkowych i oszacowanie dawki leku wprowadzanego do krwiobiegu podczas transfuzji. Dalsze badania polegały na ocenie synergistycznego działania leku i promieniowania R/NIR poprzez ocenę płynności błony komórkowej i właściwości agregacyjnych. Na podstawie wyników badań i z mocnym poparciem literaturowym Doktorantka zaproponowała model ochrony płytek krwi w czasie 8-dniowego przechowywania koncentratów i przeprowadziła szereg dalszych analiz. Tak przygotowany i przeprowadzony plan badawczy zasługuje na duże uznanie.

Na dorobek naukowy Doktorantki składa się współautorstwo w 5 pracach oryginalnych o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 14,564. W roku 2018 Doktorantka brała udział w konferencji Advanced Techniques of Vibrational Spectroscopy podczas której wygłosiła referat w języku angielskim pt.: „Zastosowanie spektroskopii ATR-FTIR do pomiaru peroksydacji białek”.

Pani mgr inż. Natalia Trochanowska-Pauk brała udział w pracach badawczych w ramach grantu TANGO1/266339/NCBR/2016 jako asystent ds. analizy danych, a od września 2021 r. jest również asystentem naukowo-dydaktycznym w Katedrze Fizyki i Biofizyki Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Ponadto Doktorantka brała udział w organizacji jednej konferencji naukowej organizowanej przez Wrocławski Park Technologiczny. Ukończyła także studia podyplomowe z zakresu „Zaawansowanych metod analizy i Eksploracji danych” oraz była opiekunem jednej pracy inżynierskiej i jednej pracy magisterskiej.

Przygotowaną przez Doktorantkę rozprawę przeczytałam z dużym zainteresowaniem. Sądzę również, że uzyskane wyniki badań mogą mieć potencjał aplikacyjny. Jednak w trakcie czytania pracy nasunęło mi się kilka uwag:

1. Autorka w rozdziale 5.3.1 opisała wyniki dotyczące oceny właściwości dwuwarstwy lipidowej błony komórkowej płytek krwi badanej przy użyciu znacznika Laurdan. Niestety w rozdziale dotyczącym metodyki badań pominęła opis tej metody. Ponadto w podsumowaniu tej części badań (punkt 1) Autorka napisała, że tikagrelor powoduje spadek parametru Laurdan GP czego, moim zdaniem, nie potwierdzają jednoznacznie przedstawione wyniki badań. Stąd też sądzą, że wniosek 6 zawarty w podsumowaniu dysertacji powinien zostać uściślony.
2. W rozdziale 5.3.2 Doktorantka przedstawiła wyniki badań dotyczących wpływu połączonego działania czynników modulujących na właściwości agregacyjne płytek,

- a w podsumowaniu pierwsze trzy punkty odnoszą badania płynności błony komórkowej płytek krwi.
3. W rozdziale 4.2.5.2 Autorka napisała: „Badanie produkcji wolnych rodników tlenkowych”. Moim zdaniem, winno być badanie poziomu reaktywnych form tlenu (RFT), ponieważ za pomocą użytej sondy fluorescencyjnej możemy zbadać poziom RFT w momencie pomiaru. Z kolei w rozdziale 5.4.2.3 Doktorantka zaprezentowała wyniki tych badań określając je jako „Poziom stresu oksydacyjnego w płytkach krwi”. Stwierdzenie to jest nieprecyzyjne, a pojęcie „stres oksydacyjny” jest znacznie szersze, niż tylko poziom RFT.
 4. W rozdziale 4.2.3.1 i 5.4.3.5 Doktorantka opisała metodę oznaczania i wyniki badania „całkowitego potencjału antyoksydacyjnego” z zastosowaniem rodnika 2,2'-azynobis(3-etylobenzenotiazolino-6-sulfonian) (ABTS*). Czy poprawniej nie byłoby napisać „oznaczenie całkowitego nieenzymatycznego potencjału przeciwutleniającego”?
 5. Rysunek 5.4.13 został podpisany jako „Zmiany przeżywalności płytek krwi...”. Czy jednak nie bardziej adekwatne byłoby określenie, poziom/stopień ekternalizacji fosfatydyloseryny?
 6. Nie jest dla jasne, z jakiego powodu rozrzut otrzymanych wyników badań w całej rozprawie doktorskiej został podany w postaci odchylenia standardowego średniej (SEM), a nie w postaci odchylenia standardowego próby badanej (SD).
 7. Załącznik 2 (dorobek naukowy autora dysertacji) zawiera błędne informacje. Pozycja 2 ma nieco inny tytuł aniżeli można znaleźć w pubmed, ponadto podano tylko tytuł czasopisma i rok wydania bez numeru woluminu i zakresu stron, a pozycja 5 zawiera informacje o roku złożenia do druku, a nie roku wydania.
 8. Na stronie 18, we wstępie literaturowym, Doktorantka podała średnią objętość krwinki płytkowej w μm^3 , a w dalszej części rozprawy doktorskiej (strona 104 i 127) w fL. Sądzę, że w przyszłości warto zwrócić uwagę na ujednoczenie jednostek w całej pracy.
 9. W dyskusji, na stronie 129, Autorka przytoczyła wyniki badań zaprezentowanych na rysunku 5.4.10, a powinno być 5.4.11. Podobnie na stronie 131, przywołany został rysunek 5.4.20, a powinno być 5.4.19.
 10. Doktorantka nie ustrzegła się kilku błędów edycyjnych (tzw. literówek, podwójnych spacji bądź ich braku czy opuszczenia w spisie rozwinięcia skrótu DIC), które jednak nie wpływają na wartość zaprezentowanej rozprawy.

Reasumując, pomimo kilku uwag, pozytywnie oceniam rozprawę doktorską p. mgr inż. Natalii Trochanowskiej-Pauk. Uważam, że rozprawa spełnia wymogi formalne określone w art. 179 ust. 2 i 3 pkt 2) lit. b) ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669). W związku z tym, wnoszę wniosek do Rady Dyscypliny Naukowej inżynieria Biomedyczna w Politechnice Wrocławskiej o przyjęcie rozprawy doktorskiej p. mgr inż. Natalii Trochanowskiej-Pauk i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Łódź, dnia 27 września 2023

Dr hab. Anna Pieniążek

