



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej
kierownik: prof. dr hab. Andrzej Gamian

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Damiana Lewandowskiego

pt: „**Porównawcze badania rozwoju mięśni miotomalnych oraz mięśni kończyn wybranych przedstawicieli gadów (Reptilia)**”

Od lat prowadzone są badania mechanizmów procesów miogenezy nie tylko z wykorzystaniem badań na poziomie morfologicznym ale również na poziomie biologii molekularnej. Poznanie mechanizmów rozwoju mięśni u kręgowców oraz porównawcza analiza rozwoju mięśni ma nie tylko aspekt poznawczy ale również filogenetyczny. Należy też podkreślić, że bardzo istotny w aspekcie medycyny regeneracyjnej. Obecny stan wiedzy dotyczący rozwoju mięśni szkieletowych kręgowców został szczegółowo przebadany, głównie jednak na organizmach modelowych: danio przegowym, żabie szponiastej, kurczęciu oraz myszy domowej. Brak jest danych literaturowych na temat miogenezy miotomalnej gadów.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa jest dobrze napisana i posiada klasyczny układ.

Wstęp pracy poprzedzony jest dorobkiem naukowym Doktoranata, wykazem najczęściej stosowanych skrótów, rycin i tabel.

We *wstępie* Autor szczegółowo opisuje budowę mięśni poprzecznie prążkowanych szkieletowych. Uważam, że część tych wiadomości jest książkowa i nie potrzebnie przytaczana, szczególnie ta dotycząca budowy sarkomeru. Doktorant opisuje typy włókien mięśniowych, wczesne etapy różnicowania mięśni, ich wzrost oraz genetyczną regulację tego procesu, w tym miogenne czynniki regulatorowe i transkrypcyjne. Ta część pracy nie budzi większych moich zastrzeżeń. Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę Doktorantowi, że białko mioglobina, które opisuje w podrozdziale „Typy włókien mięśniowych” nie jest z pewnością białkiem transportującym tlen. Ze względu na swoją budowę mioglobina w przeciwieństwie do hemoglobiny może jedynie magazynować tlen. Dlatego włókna czerwone, w którym proces zużycia tlenu przebiega z dużą

intensywnością są bogate w mioglobinę, która uwalnia zmagazynowany tlen ale go nie transportuje. Sądzę jednak, że nie był to zamierzony przez Doktoranta błąd merytoryczny, jedynie niefortunne określenie funkcji tego białka we włóknach mięśniowych.

Cel pracy został jasno sprecyzowany. Interesującym aspektem nie tylko poznawczym ale również ewolucyjnym celu pracy i przeprowadzonych badań była porównawcza analiza rozwoju mięśni szkieletowych wybranych przedstawicieli gadów: zaskrońca zwyczajnego, kobry egipskiej oraz jaszczurki zwinki. Jest to tym bardziej interesujące ze względu na to, że etapy i mechanizm miogenezy u gadów są ogniwem brakującym w rozwoju mięśni, które zostały dobrze poznane u innych grup kręgowców.

Materiał badawczy i Metody opisane są w sposób bardzo staranny i należyście szczegółowo. Zaskoczeniem dla mnie jednak było wykorzystanie zdjęć badanych gatunków gadów ze stron internetowych, tym bardziej, że Doktorant miał wszystkie te gatunki w hodowli. Bardziej wiarygodne byłyby zdjęcia tych konkretnych. Doktorant do realizacji postawionego sobie celu wykorzystał metody morfologiczne na poziomie mikroskopu świetlnego i elektronowego oraz biochemiczne (immunocytochemiczne i western blot). Na uwagę zasługuje również fakt, że badania prowadzone były na gatunkach rzadkich i chronionych. Doktorant musiał postarać się formalnie o możliwość badania wybranych przez siebie gatunków. Należy podkreślić, że Doktorant zdobył ten trudno dostępny materiał i udało mu się przeprowadzić szereg powtarzalnych i istotnych statystycznie badań. W rozdziale tym Doktorant z dużą precyzją opisuje materiał badawczy, hodowlę zwierząt i inkubację jaj oraz wykorzystane w pracy metody badawcze. Do analizy statystycznej danych Autor wykorzystuje test t-studenta, w którym przyjęto współczynnik istotności statystycznej $p < 0,05$.

W rozdziale *Wyniki* Doktorant wykazał, że przebieg rozwoju mięśni szkieletowych tzn.: budowa somitu, pochodzenie komórek progenitorowych, modelowanie miotomu pierwotnego u badanych gatunków węży ma podobny przebieg dla miogenezy owodniowców. Podobnie, wykazał również, że rozwój kończyn u jaszczurki zwinki ma podobny przebieg do wcześniej badanych gatunków kręgowców. Obok cech charakterystycznych dla przebiegu miogenezy u innych kręgowców Doktorant zwrócił uwagę, że istnieją też pewne różnice charakterystyczne tylko dla badanych gatunków węży. Dostrzegł obecność mięśni czerwonych, które jego zdaniem nie pełnią funkcji motorycznych ale są bogate w liczne krople lipidowe zlokalizowane wokół jądra komórkowego. Zastanawia mnie tylko jedno. Wcześniej Doktorant opisuje, że wykazał iż u zaskrońca dochodzi do równoczesnego rozwoju mięśni białych i czerwonych. Potem pisze, że unikatowe mięśnie, gromadzące lipidy są włóknami czerwonymi. Moje pytanie jest następujące, czy w stadium, w którym Doktorant obserwował unikatowe włókna czerwone, bogate w krople lipidowe

były obecne również grupy mięśni czerwonych, które posiadały prawidłową, klasyczną morfologię? Po za tym każdej grupie mięśni towarzyszą komórki satelitarne, o czy wcześniej pisze Doktorant. Moje drugie pytanie, czy w tej unikatowej grupie mięśni komórki satelitarne były obecne, czy nie? Komórki satelitarne w warunkach fizjologicznych odnawiają pulę jąder w mięśniu. Jeżeli komórki satelitarne były nie obecne, to można by uznać ten fakt za drugą unikatową cechę dla badanych gatunków węży. Opisane w rozdziale uzyskane *wyniki* są poparte przez Doktoranta bardzo przejrzystymi rycinami przedstawiającymi obrazy z mikroskopu świetlnego, konfokalnego i elektronowego oraz wyniki uzyskane przy użyciu metody western blot. Moje zastrzeżenia budzą jedynie opisy pod rycinami, które dla mnie są dość chaotyczne i nie do końca jasne. Bardzo często znajdują się na drugiej stronie, co w dużym stopniu utrudnia recenzentowi ocenę rycin.

Moją uwagę zwrócił wynik otrzymany metodą western blot na ekspresję białka Pax 7 strona 48. Moim zdaniem w stadium I i II obecne są dwa prążki. Chciałbym się dowiedzieć, w jaki sposób Doktorant to tłumaczy? Nie zgadzam się również, na podstawie oceny ekspresji białka Pax 7 otrzymanej metodą western blot, że jest on na podobnym poziomie (Fot. 7 C). Nie jest to dla mnie do końca czytelne. Według mnie ten wynik powinien zostać powtórzony.

W obszernej 12-stronicowej *dyskusji* doktorant ocenia uzyskane przez siebie wyniki na tle bardzo ubożego piśmiennictwa przedmiotu, jednocześnie wskazuje zagadnienia, które powinny być przedmiotem dalszych badań. Ta część dysertacji jest moim zdaniem najlepiej napisana. Za bardzo nowatorskie i czytelne uważam jej podział na podrozdziały.

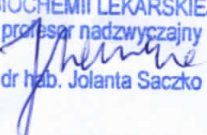
Autor rozprawy na podstawie uzyskanych wyników formułuje 14 wniosków. Wszystkie wynikają bezpośrednio z uzyskanych przez Doktoranta wyników. Należy podkreślić, że dobrze napisane streszczenie rozprawy nie tylko w języku polskim, ale także w języku angielskim ułatwia na wstępnym etapie ocenę pracy.

Nowatorsko przedstawiona, nie numerowana literatura nie koniecznie budzi mój podziw i zmusza recenzenta do policzenia pozycji literaturowych.

Moja ogólna ocena pracy jest bardzo dobra. Praca jest nowatorska i ma dużą wartość poznawczą. Zamieszczone w recenzji uwagi nie rzutują na moją pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej mgr Damiana Lewandowskiego, którą uważam za istotne osiągnięcie naukowe Doktoranta i Jego Promotora.

Uważam, że rozprawa doktorska mgr Damiana Lewandowskiego spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim przez art. 14 i 15 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. z późniejszymi zmianami. Z pełnym przekonaniem wnoszę więc do Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o

przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Damiana Lewandowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I ZAKŁAD
BIOCHEMII LEKARSKIEJ
profesor nadzwyczajny

dr hab. Jolanta Sączko