



**Prof. dr hab. Ewa Chabielska**  
**Samodzielna Pracownia Biofarmacji**  
**ul. Mickiewicza 2C,**  
**15-222 Białystok**  
**e-mail: chabewa@poczta.onet.pl**

## **Recenzja rozprawy doktorskiej**

**pt. „Badanie wpływu wybranych modulatorów aktywacji  
i reaktywności płytek krwi w mysich modelach laboratoryjnych różnych stanów  
fizjologicznych i patofizjologicznych człowieka”**

**wykonanej przez mgr inż. Hassana Kassassir  
w Zakładzie Zaburzeń Krzepnięcia Krwi Katedry Nauk Biomedycznych Uniwersytetu  
Medycznego w Łodzi.**

Zwierzęce modele ludzkich chorób układu sercowo-naczyniowego stanowią użyteczne narzędzie w badaniach przedklinicznych z zakresu patofizjologii i farmakologii. Tylko pełna charakterystyka tych modeli daje gwarancję uzyskania wiarygodnych i powtarzalnych wyników oraz ich rzetelną konfrontację z danymi literaturowymi.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Hassana Kassassir obejmuje wielokierunkowe badania płytek krwi wykonane w zwierzęcych modelach patologii układu sercowo-naczyniowego. Dotyczyły one opracowania protokołu badań pozwalającego na wiarygodną ocenę funkcji płytek krwi gryzoni laboratoryjnych, ocenę aktywacji oraz reaktywności płytek krwi w stanach patologicznych oraz poddanych wpływom związków pochodzenia naturalnego i syntetycznego o potencjalnym działaniu przeciwplatekcyjnym. Kolejnym ważnym, z punktu widzenia klinicznego, celem badań było poszukiwanie mechanizmu obniżonej wrażliwości płytek krwi na kwas acetylosalicylowy na poziomie nieenzymatycznej modyfikacji cyklooksygenazy typu 1 w układzie *in vitro*. Rozprawa została wykonana pod opieką Prof. dr hab. n. med. Cezarego Watały, eksperta światowego w badaniach nad płytkami krwi.

Rozprawa doktorska mgr inż. Hassana Kassassir została napisana w postaci wielostronicowego Komentarza do zbioru 8 publikacji opublikowanych w latach 2013 – 2017 w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Doktorant jest pierwszym autorem w 3 pracach oryginalnych i rozdziale książki, co definiuje Jego kluczowy wkład w ich powstanie. Całkowity IF prezentowanych prac wynosi 18,66, całkowita punktacja MNiSW wynosi 210. Dużym osiągnięciem Doktoranta jest wykonanie badań i opublikowanie prac w tak krótkim czasie.

Komentarz do publikacji składających się na rozprawę doktorską jest logiczny, klarowny i napisany bardzo dobrą polszczyzną. W pierwszej części Komentarza (Rozdziały I, II i III) Doktorant krótko przedstawia założenia teoretyczne i podstawy hipotez badawczych dotyczące prowadzonych badań. Rozdział ten jest równoważny wstępowi teoretycznemu klasycznej pracy doktorskiej. Cel pracy, został sformułowany precyzyjnie na końcu pierwszej części Komentarza. W odniesieniu do użytych w pracy metod eksperymentalnych (Rozdział III) podkreślić należy fakt, iż Doktorant w czasie studiów doktoranckich poznał i zastosował następnie liczne nowoczesne metody z zakresu szeroko pojętej diagnostyki funkcji płytek krwi, ze szczególnym uwzględnieniem metody cytometrii przepływowej, a ponadto metodę wysokoczułej spektrometrii masowej sprzężonej z wysokorozdzielczą chromatografią cieczową, testy immunoenzymatyczne, mikroskopię przyziściową, metodę laserowego pomiaru przepływu krwi w naczyniach krwionośnych (met. Dopplera) oraz metody oceny aktywacji płytek krwi. Doktorant posiada również trudną umiejętność prowadzenia badań na zwierzętach w zakresie doświadczalnych modeli patologii ludzkiej. W przedstawionych badaniach wykorzystał mysie modele zwierzęce reprezentujące stany patologii człowieka (cukrzyca I i II typu) oraz myszy szczepu dzikiego, reprezentujące model laboratoryjny prawidłowego funkcjonowania organizmu.

Kolejny rozdział Komentarza składa się ze wspomnianych wyżej 7 oryginalnych publikacji napisanych w języku angielskim (Rozdział IV) i anglojęzycznego rozdziału książki pt.: *Flow Cytometry – select topics*” wydawnictwa *InTech*. Doktorant wraz ze współautorami opisuje w nim praktyczne i metodologiczne aspekty cytometrii przepływowej, jako metody używanej w badaniach podstawowych na materiale zwierzęcym, Jest to znakomite uzupełnienie do pierwszej części Komentarza, dotyczącej zagadnień teoretycznych związanych z tematem rozprawy doktorskiej.

W rozdziałach „Omówienie wyników” (Rozdział V) i „Wnioski” (Rozdział VI), uzupełnionych o polskie i angielskie „Streszczenie” (Rozdział VII) Autor dokonał wnikliwej, szerokiej i bardzo merytorycznej analizy uzyskanych wyników. Za najważniejsze wyniki, które Doktorant uzyskał w ramach realizacji badań uważam:

1. Optymalizację, z wykorzystaniem cytometrii przepływowej, protokołu oceny aktywacji i reaktywności płytek krwi z uwzględnieniem wyboru anestezji, sposobu pobrania krwi, procedury przygotowania materiału do badań oraz wyboru agonistów i przeciwciał.

Wykazanie następnie, przy wykorzystaniu opracowanego protokołu badawczego, co następuje:

2. zaburzeń funkcjonowania płytek krwi, a więc zmian ich aktywacji i reaktywności, u myszy db/db (model cukrzycy typu 2).
3. zwiększonej ekspresji receptora PAR-3 płytek krwi myszy db/db, co może być jednym z czynników odpowiadających za nadreaktywność płytek u tych zwierząt.

4. zwiększonej aktywacji, reaktywności oraz adhezji do ściany naczyń krwionośnych płytek krwi myszy z cukrzycą indukowaną streptozotocyną (model cukrzycy typu 1) wraz ze wskazaniem mechanizmów angażujących płytkowy kompleks GPIb-IX-V i wzrost ekspresji czynnika von Willebranda w komórkach śródbłonna.
5. indukcji agregacji płytek krwi *in vivo* przez związki polikationowe - w tym przypadku niemodyfikowane dendrymery poliamidoaminowe (PAMAM) niższych generacji, co niekorzystnie ogranicza przepływ krwi w naczyniu krwionośnym.
6. hamowania, na tym samym poziomie w warunkach *in vitro* oraz *in vivo*, aktywacji płytek krwi (ekspresji aktywnej formy receptora  $\alpha IIb\beta 3$ ) przez kangrelol - antagonistę receptora P2Y<sub>12</sub>.
7. przeciwplatekowego działania ksantohumolu - polifenolu znajdującego się w szyszkach chmielu (*Humulus lupulus L.*), wskazując na potencjalną możliwość stosowania związku w profilaktyce chorób układu-sercowo-naczyniowego.
8. Ponadto udowodnienie w układzie *in vitro*, reakcji nieenzymatycznej N-glikozylacji cyklooksygenazy- 1 oraz możliwej kompetycji pomiędzy procesami glikacji i acetylacji płytkowego COX-1.

Należy podkreślić znaczenie uzyskanych wyników zarówno w aspekcie metodologicznym związanym z charakterystyką szeroko stosowanych modeli zwierzęcych patologii ludzkiej, jak też klinicznym, w związku z próbą poszukiwania mechanizmu aspirynooporności i nowych możliwości farmakologicznej ingerencji w nieprawidłowości funkcji płytek krwi w chorobach układu sercowo-naczyniowego.

Komentarz zamykają: Rozdział IX - „Bibliografia”, która jest prawidłowo wyselekcjonowana, Rozdział X - „Naukowe osiągnięcia doktoranta” charakteryzujący Doktoranta jako naukowca dynamicznego, z dużym dorobkiem naukowym i umiejętnością pozyskiwania grantów badawczych i współpracy naukowej. Ostatni XI Rozdział stanowią „Oświadczenia współautorów” wyrażających zgodę na wykorzystanie publikacji w przewodzie doktorskim.

Podsumowując, bardzo wysoko oceniam rozprawę doktorską mgr inż. Hassana Kassassir pod tytułem „**Badanie wpływu wybranych modulatorów aktywacji i reaktywności płytek krwi w mysich modelach laboratoryjnych różnych stanów fizjologicznych i patofizjologicznych człowieka**”. Wyniki uzyskane w toku realizacji badań mają nowatorski charakter i zostały opublikowane w cenionych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Rozprawa została napisana na bardzo dobrym poziomie merytorycznym i edytorskim. Doktorant reprezentuje bardzo wysoki poziom naukowy, wyrażony dużym dorobkiem publikacyjnym oraz umiejętnością pozyskiwania grantów naukowych.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) i wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Hassana Kassassir do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnoszę również o wyróżnienie rozprawy właściwą nagrodą. Wniosek w tej sprawie dołączam do mojej recenzji.



Białym 28.09.2017



**Prof. dr hab. Ewa Chabielska**  
**Samodzielna Pracownia Biofarmacji**  
**ul. Mickiewicza 2C,**  
**15-222 Białystok**  
**e-mail: chabewa@poczta.onet.pl**

Sz. Pani  
Dr hab. n. med. prof. nadzw. Elżbieta Smolewska  
Prodziekan ds. Nauki  
Wydziału Nauk o Zdrowiu  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Szanowna Pani Dziekan,

Wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Hassana Kassassir pod tytułem  
*„Badanie wpływu wybranych modulatorów aktywacji i reaktywności płytek krwi w mysich modelach laboratoryjnych różnych stanów fizjologicznych i patofizjologicznych człowieka”.*

*Uzasadnienie :*

1. Wyniki uzyskane w toku realizacji badań mają nowatorski charakter i zostały opublikowane w cenionych czasopismach o zasięgu międzynarodowym.
2. Rozprawa została napisana na bardzo dobrym poziomie merytorycznym i edytorskim.
3. Doktorant reprezentuje bardzo wysoki poziom naukowy, wyrażony dużym dorobkiem publikacyjnym oraz umiejętnością pozyskiwania grantów naukowych .

Z wyrazami szacunku

Białystok 28.09.2017