



UNIwersytet Medyczny w Lublinie
KATEDRA i ZAKŁAD FARMAKOLOGII z FARMAKODYNAMIKĄ
ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin
tel./fax 81-448-72-52

Ocena pracy doktorskiej
p.t. „Kinureniny a biomechanika i geometria kości w przewlekłej chorobie
nerek u szczura” wykonanej przez
mgr farm. Bartłomieja Grzegorza Kałasę
w Zakładzie Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego
w Białymstoku pod kierunkiem
prof. dr hab. Dariusza Pawlaka

Przebudowa kości jest procesem złożonym, podlegającym regulacji pod wpływem wielu różnych, często jeszcze nieznanych, czynników, trwającym całe życie. Z drugiej strony, przewlekła choroba nerek (PChN) to wieloobjawowy zespół chorobowy, który jest następstwem zmniejszenia się liczby czynnych nefronów. Według obowiązującej definicji (KDIGO) z 2012 jest to utrzymująca się ponad 3 miesiące nieprawidłowość budowy lub czynności nerki mająca znaczenie dla zdrowia. Szacuje się, że dotyczy ona nawet 600 milionów ludzi na całym świecie, w tym około 4,3 mln w Polsce, można więc uznać ją za chorobę cywilizacyjną. Łącząc oba wyżej wymienione procesy stwierdzić należy, iż u pacjentów z PChN stwierdzono występowanie zaburzeń mineralno-kostnych, mogących prowadzić do osteoporozy, samoistnych złamań kości i pogorszenia jakości życia. Biorąc

pod uwagę możliwe przyczyny tych zaburzeń, coraz więcej danych literaturowych wskazuje na udział tryptofanu i aktywnych biologicznie produktów jego degradacji, zwłaszcza w szlaku kinureninowym, czyli kinureniny i 3-hydroksykinureniny. W PChN dochodzi do kumulacji tych metabolitów, biorą one udział w generowaniu stresu oksydacyjnego, wykazują działanie neurotoksyczne, mogą uczestniczyć, na drodze zahamowania syntezy EPO, w rozwoju niedokrwistości i modulowania czynności układu immunologicznego. Dalszy rozwój wiedzy o tych współdziałaniach nie może odbywać się z pominięciem danych uzyskanych w eksperymentach *in vivo* z użyciem zwierząt doświadczalnych, w tym zwierzęcego modelu PChN.

Oceniana praca doktorska wpisuje się w ten nurt badań, posiadając niezaprzeczalne walory poznawcze. Zastosowano bardzo interesującą i pracochłonną procedurę subtotalnej nefrektomii u szczurów, dokonując następnie oceny biomechanicznej i histologicznej układu kostnego oraz poziomu tryptofanu i jego metabolitów w surowicy i w izolowanych strukturach mózgu. O wartości pracy świadczy fakt uzyskania finansowania badań w ramach grantu NCN Preludium. Warto również dodać, że część wyników ocenianej rozprawy została już opublikowana.

Układ dysertacji doktorskiej jest typowy dla tego typu prac – obszerna rozprawa liczy 85 stron i zawiera 66 przejrzystych i czytelnych rycin, w tym rycinę przedstawiającą obrazy histologiczne kości piszczelowej w grupie kontrolnej i badanej oraz schemat przeprowadzania eksperymentu, 12 tabel z dokładnie przedstawionymi korelacjami, 159 pozycji prawidłowo dobranego piśmiennictwa cytowanego w kolejności pojawiania się w tekście oraz streszczenie w języku polskim i angielskim.

Wstęp stanowi przegląd literatury dotyczący przewlekłej choroby nerek i zaburzeń mineralno-kostnych jej towarzyszących, budowy i funkcji kości oraz szlaku kinureninowego i

jego zaburzeniom. Informacje zawarte we wstępie pracy są konkretne, związane ściśle z tematem pracy. Autor uniknął tym samym zbytniego rozbudowania tej części dysertacji.

Cel pracy został dobrze uzasadniony, a rozmiar zaplanowanej części doświadczalnej jest imponujący.

Rozdział „Część doświadczalna” jest napisany bardzo dokładnie. Opis aparatury i procedur jest zrozumiały i wyczerpujący. Badania są zaplanowane bardzo starannie, a grupy eksperymentalne są odpowiednio kontrolowane. Zastosowano także adekwatne metody statystycznej oceny wyników. Umiejętność posługiwania się powyższymi technikami eksperymentalnymi świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu metodycznym Doktoranta.

Wyniki są przedstawione bardzo klarownie, zarówno jeśli chodzi o analizę statystyczną, jak i ich prezentację na rycinach i w tabelach. Jest to bardzo mocna część pracy, zasługująca na specjalne wyróżnienie.

Dyskusja wyników jest logiczna i wyczerpująca. Należy podkreślić wykorzystanie najnowszych pozycji piśmiennictwa do interpretacji wyników. Doktorant umiejętnie porusza się w sferze wyników innych autorów, które nie zawsze muszą być zgodne z wynikami z rozprawy doktorskiej. Doktorant w oparciu o wyniki własne i dane z piśmiennictwa umiejętnie analizuje potencjalne mechanizmy powiązań między szlakiem kinureninowym i aktywnymi biologicznie metabolitami tryptofanu oraz geometrią i biomechaniką kości w zwierzęcym modelu doświadczalnej niewydolności nerek u szczurów. Wykazuje przy tym imponującą znajomość aspektów farmakologicznych i klinicznych tego zjawiska. Na pochwałę zasługuje zdolność wyselekcjonowania tych faktów, które najbardziej trafnie mogą tłumaczyć rezultaty przeprowadzonych badań.

Rozprawę kończą wnioski oraz ogólne podsumowanie potwierdzające istotną rolę metabolitów szlaku kinureninowego w rozwoju zaburzeń mineralno-kostnych w przebiegu PChN, zależnie od miejsca ich występowania.

Jeśli chodzi o stronę techniczną, edytorską i językową, to rozprawa jest niezwykle starannie zredagowana - jej język bardzo poprawny, terminologia naukowa bez zarzutu. Piśmiennictwo, odpowiednio dobrane i aktualne, zostało zacytowane właściwie.

Nawet po wnikliwym zaznajomieniu się z ocenianą rozprawą doktorską nie znajduję żadnych uwag, ani merytorycznych ani technicznych, które mogły by być zawarte w tej części mojej recenzji. Sugerować mogę jedynie, w badaniach niewątpliwie będących kontynuacją i rozwinięciem tak ciekawej tematyki, podjęcie próby oceny badanych współzależności u szczurów starszych w użytym modelu niewydolności nerek. Dane literaturowe są w tej materii nadal sprzeczne, wskazują na to, iż starsze szczury mogą być albo bardziej odporne albo, przeciwnie, bardziej wrażliwe na stres oksydacyjny i procesy zapalne towarzyszące niedotlenieniu i niewydolności nerek; stwierdzono także różne poziomy markerów biochemicznych, tj. kreatyniny i mocznika, w ich przebiegu u tych szczurów. Warto by było również oznaczyć markery stresu oksydacyjnego (np. TAS, SOD, GPx, MDA) zwłaszcza w homogenatach mózgów i badanych przez Doktoranta izolowanych strukturach mózgu, i markerów stanu zapalnego (np. CRP) i wykazać dodatkowe korelacje między szlakiem kinureninowym, przewlekłą niewydolnością nerek i w/w procesami.

W podsumowaniu chcę stwierdzić, że przedstawiona do recenzji praca dotyczy bardzo ważnego, nie do końca poznanego, ale i trudnego tematu badawczego. Zastosowano metody z zakresu farmakologii doświadczalnej oraz technikę nefrektomii. Badania zaplanowano, wykonano i opisano bardzo starannie. Dojrzała merytorycznie dyskusja ma charakter ogólny i dobrze odnosi otrzymane wyniki do współczesnej wiedzy. Praca niesie istotne i nowe treści, a oryginalne wyniki dotyczące potencjalnie korzystnych powiązań, z

klinicznego punktu widzenia, będą bardzo przydatne dla farmakologów (i klinicystów) poruszających się w obrębie analizowanej tematyki badań. Chciałabym wyrazić uznanie dla wkładu pracy, rzetelności i wiedzy Autora. Rozprawa dowodzi umiejętności samodzielnego rozwiązywania problemów naukowych i świadczy o posiadaniu dużej wiedzy teoretycznej i doświadczenia właściwie wykorzystywanych przy konstrukcji kolejnych etapów pracy. Pracę w całości uważam za wartościową, stanowiącą samodzielny, oryginalny dorobek Autora.

Podsumowując, rozprawę doktorską pana **mgr farm. Bartłomieja Grzegorza Kałaski p.t. „Kinureny a biomechanika i geometria kości w przewlekłej chorobie nerek u szczura”** wykonaną w Zakładzie Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem prof. dr hab. Dariusza Pawłaka oceniam bardzo wysoko. Otrzymane w pracochłonnych badaniach wyniki są oryginalne i stanowią ważny przyczynek do zrozumienia mechanizmów powstawania osteoporozy w przebiegu PChN oraz opracowania nowych strategii diagnostycznych i terapeutycznych tego rodzaju zaburzeń.

Rozprawa spełnia ustawowe warunki o stopniach naukowych i tytule naukowym. Wnioskuje o dopuszczenie pana mgr farm. Bartłomieja Grzegorza Kałaski do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Otrzymane w pracochłonnych badaniach wyniki są oryginalne, częściowo opublikowane i stanowią ważny przyczynek do zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw badanych współzależności, co upoważnia mnie do wysunięcia wniosku o wyróżnienie rozprawy dołączonego do niniejszej recenzji.

Lublin, 2017-06-21

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Farmakologii
z Farmakodynamiką

prof. dr hab. Grażyna Biś