

Recenzja Rozprawy Doktorskiej

mgr Małgorzaty Karbowskiej

pt. „Wpływ siarczanu indoksyłu na proces krzepnięcia i fibrynolizy w zwierzęcym modelu zakrzepicy”

Przewlekła choroba nerek (PChN) jest poważnym problemem zdrowotnym naszego społeczeństwa oraz czynnikiem ryzyka rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego. U pacjenta z PChN występuje bardzo wysokie ryzyko zgonu z powodu powikłań sercowo-naczyniowych. Upośledzenie funkcji nerek prowadzi do gromadzenia w organizmie toksyn mocznicowych, takich jak siarczan indoksyłu. Siarczan indoksyłu jest jedną z toksyn mocznicowych, która uznawana jest za czynnik ryzyka rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego u pacjentów z PChN, powstaje z przemian metabolicznych tryptofanu. W przypadku zaburzenia filtracji kłębuszkowej dochodzi do kumulacji siarczanu indoksyłu, a jego stężenie u pacjentów z PChN może być 80 razy wyższe. Podjęty temat jest niezwykle istotny, ponieważ u pacjenta z PChN dochodzi do zaburzenia hemostazy naczyniowej, płytkowej i osoczowej, a to zwiększa ponad dziesięciokrotnie ryzyko wystąpienia schorzeń zakrzepowo-zatorowych, takich jak udar mózgu i zawał mięśnia sercowego.

Celem ocenianej pracy była analiza wpływu siarczanu indoksyłu na układ krzepnięcia i fibrynolizy oraz proces powstawania zakrzepu w zwierzęcym modelu zakrzepicy.

W artykule poglądowym Doktorantka wprowadza w problem badawczy i opisuje sposoby usuwania siarczanu indoksyłu z organizmu, aktywność biologiczną oraz wielokierunkowy charakter działania tej toksyny, która ma właściwości kardio-, nefrotoksyczne oraz potęguje efekt tzw. „błędnego koła” w przebiegu PChN poprzez wzrost obciążenia nefronów, uszkodzenie komórek kanalikowych oraz zwłóknienie i stwardnienie kłębuszków nerkowych. Jednocześnie siarczan indoksyłu ma działanie prooksydacyjne, prozapalne, hamuje proliferację komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, kalcyfikację naczyń krwionośnych, powoduje przerost kardiomiocytów i zwłóknienie mięśnia sercowego. Należy zwrócić uwagę, na aktywność w pozyskiwaniu przez Doktorantkę finansowania

na badania. Pani mgr Małgorzata Karbowska zdobyła zewnętrzne finansowanie z NCN (Preludium 2015/17/N/NZ4/02334), które umożliwiło Jej przygotowanie części eksperymentalnej rozprawy doktorskiej. Badania przeprowadzono na zwierzętach modelowych (szczury stada Wistar-Crl:WI (cmdb) i myszy (szczep C57B1/6J)) dwuetapowo. Oceniała wpływ siarczanu indoksylu na proces powstawania zakrzepu po jednorazowym dożylnym podaniu (ostre narażenie) oraz po chronicznej ekspozycji (związek rozpuszczono w wodzie pitnej, a następnie podawany był on szczurom przez okres 4 tygodni w dawce 100 bądź 200 mg/kg m.c./dzień). Podsumowując, wykazano prozakrzepowe właściwości badanej toksyny oraz jej wpływ na nasilenie odpowiedzi zakrzepowej organizmu. Stwierdzono ponadto, że siarczan indoksylu wpływa na hemostazę pierwotną prowadząc do nasilenia powstawania czopu płytkowego poprzez zwiększenie liczby i aktywację płytek krwi oraz na hemostazę wtórną poprzez oddziaływanie na osoczowe czynniki układu krzepnięcia i fibrynolizy, prowadząc m.in. do wzrostu stężenia kompleksów inicjujących proces krzepnięcia – kompleksów czynnika tkankowego z czynnikiem VIIa i wzrostu stężenia PAI-1 oraz modyfikuje kinetykę tworzenia skrzepu zwiększając stabilność skrzepu oraz skraca czas potrzebny do jego wytworzenia. Przewlekłe narażenie na siarczan indoksylu prowadziło również do spadku stężenia sirtuiny 1 i 3 w aortach.

Podsumowując, uzyskane wyniki sugerują, że siarczan indoksylu może być jednym z kluczowych czynników odpowiedzialnych za incydenty zakrzepowo-zatorowe w przebiegu PChN.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Karbowskiej posiada układ, który obejmuje wprowadzenie, cel pracy, publikacje składające się na rozprawę doktorską, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim, angielskim, dorobek i doświadczenie naukowe autora oraz życiorys.

Rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Karbowskiej stanowi cykl trzech prac opatrzoney wspólnym tytułem: „Wpływ siarczanu indoksylu na proces krzepnięcia i fibrynolizy w zwierzęcym modelu zakrzepicy”. W skład rozprawy doktorskiej wchodzi następujące publikacje:

1. **Karbowska M.**, Kamiński T.W., Znorko B., Domaniewski T., Misztal T., Rusak T., Pryczynicz T., Guzińska-Ustymowicz K., Pawlak K., Pawlak D. Indoxyl sulfate promotes arterial thrombosis in rat model via increased levels of complex TF/VII, PAI-1, platelet activation as well as decreased contents of SIRT1 and SIRT3. *Frontiers in Physiology* 2018 : 9, 1623, 12

2. **Karbowska M.**, Kamiński T., Marcińczyk N., Misztal T., Rusak T., Smyk Ł., Pawlak D. The uremic toxin indoxyl sulfate accelerates thrombotic response after vascular injury in animal models. *Toxins* 2017 : 9, 7, 229-244.
3. **Karbowska M.**, Kamiński T., Pawlak D. Methods of reducing the level of indoxyl sulfate - one of the most potent protein-bound uremic toxins. *Toxin Reviews* 2016 : 35, 3-4, s. 171-179.

Prace zostały opublikowane w latach 2016-2018. Doktorat jest pierwszym autorem w trzech publikacjach. Łączna punktacja Impact Factor przedstawionego cyklu trzech publikacji będących przedmiotem rozprawy doktorskiej wynosi ponad 7, a w punktach MNiSW 85. Wszystkie publikacje wchodzące w skład cyklu są wynikiem współpracy wielu autorów. Doktorant udokumentował rzetelnie swój udział w poszczególnych pracach zgodnie z przyjętymi wymogami dla tego typu prac. Cykl prac składa się z jednej pracy poglądowej wprowadzającej czytelnika w aktualny stan wiedzy związanej z badaniami oraz dwóch prac oryginalnych.

Problem badawczy podjęty przez Doktorantkę jest bardzo istotny, opracowanie zawiera elementy nowatorskie i wnosi nowe dane w dziedzinie nauk medycznych. Świadczy to także o bardzo dobrej znajomości przedstawionego problemu i umiejętności posługiwania się różnymi metodami badawczymi. Badania były bardzo dobrze zaplanowane i przeprowadzone, a ich wyniki opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych. Mają one charakter nowatorski o charakterze poznawczym. Ponadto Doktorantka wykazała się dużymi umiejętnościami w krytycznym omówieniu otrzymanych wyników.

We wniosku końcowym stwierdzam że rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Karbowskiej pt. „Wpływ siarczanu indoksylu na proces krzepnięcia i fibrynolizy w zwierzęcym modelu zakrzepicy” stanowi nowatorskie badanie naukowe o czym świadczą uzyskane wyniki opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej.

Doktorant sumiennie udokumentował w swojej rozprawie wiedzę, znajomość problematyki wpływu siarczanu indoksylu na proces krzepnięcia i fibrynolizy w modelu zwierzęcym oraz posiada umiejętności w zakresie korzystania z odpowiednich technik niezbędnych do realizacji problemu badawczego, jak również umiejętność pisania manuskryptów oraz pozyskiwania środków finansowych z zewnętrznych źródeł (NCN).

Dotychczasowy dorobek Pani mgr Małgorzaty Karbowskiej należy uznać za wybitny dla osoby w jej wieku. Jej łączny wskaźnik oddziaływania to 35 (IF), 400 punktów MNiSW, cytowana była 80 razy, a indeks H wynosi 6. Po wyłączeniu prac składających się na rozprawę doktorską Doktorantka jest współautorką 13 publikacji, brała czynny udział

w konferencjach polskich oraz zagranicznych, była kierownikiem projektu finansowanego przez NCN (Preludium) oraz 5 projektów finansowanych z środków Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego w Białymstoku oraz wykonawcą w 10 innych projektach. Doktorantka jest laureatką wielu prestiżowych nagród i wyróżnień dla najlepszego studenta oraz doktoranta.

W mojej ocenie stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Karbowskiej w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (D.U. 2016 poz. 882 z późn.zm). W związku z powyższym składam przed Wysoką Radą Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, wniosek o dopuszczenie mgr Małgorzaty Karbowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na fakt, że praca wnosi znaczący nowatorski wkład w dotychczasową wiedzę, wyróżnia się oryginalnością, a uzyskane wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, składam do Wysockiej Rady Naukowej Wydziału wniosek o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.

*Uzasadnienie w sprawie wyróżnienia rozprawy doktorskiej Pani mgr Małgorzaty
Karbowskiej.*

Kandydatka na stopień doktora, spełnia stosowne wymogi zgodnie z Załącznikiem Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej UMB nr13/17 z dn. 25.01.2017. Praca doktorska Pani mgr Małgorzaty Karbowskiej prezentuje wysoki poziom w rozwiązaniu problemu badawczego oraz jakości i zakresu prowadzonych badań, wyróżnia ją oryginalność prowadzonych badań, zastosowanych metod i narzędzi poznawczych oraz ma wyjątkowe walory poznawcze. Praca doktorska jest składanką 3 publikacji z pierwszym autorstwem Doktorantki o łącznym IF ponad 7.

Joanna Wojtkiewicz

Dr hab. n. med., Joanna Wojtkiewicz, prof. UWM
Katedra Patofizjologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie