
Białystok 5. 09. 2018

Ocena

rozprawy doktorskiej **lek. med. Leszka Kraja**

pt: „**Metabolizm L-argininy u dzieci z astmą oskrzelową**”,
wykonanej pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Anny Barańczyk-Kuźmy
i Pani dr n. med. Alicji Chrzanowskiej w Katedrze i Zakładzie Biochemii
I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Arginina należy do grupy aminokwasów endogennych, ale synteza tego aminokwasu jest niewystarczająca w okresie wzrostu organizmu. Z tego powodu wielu autorów aminokwas ten zalicza również do grupy aminokwasów egzogennych.

L-arginina jest nie tylko substratem w syntezie białek, ale również bierze udział w licznych innych procesach zachodzących w organizmie człowieka. Uczestniczy w metabolizmie azotu, niezbędna jest do syntezy kreatyny - prekursora fosfokreatyny, moduluje funkcję układu odpornościowego. Aminokwas ten cieszy się obecnie jeszcze większym zainteresowaniem z powodu, iż jest substratem w powstawaniu tlenku azotu. Ta bardzo nietrwała cząsteczka wykazuje wielostronne funkcje biologiczne, jest przedmiotem zainteresowań wielu dyscyplin klinicznych. Między innymi obniża ciśnienie tętnicze, hamuje agregację płytek krwi, pobudza fibryinolizę, uczestniczy w przekazywaniu sygnałów.

Astma jest powszechnym, coraz częstszym schorzeniem występującym zarówno u dorosłych, jak i u dzieci. Definiuje się ją jako przewlekłą chorobę zapalną, cechującą się nadreaktywnością i odwracalną obturacją oskrzeli.

Pomiar stężenia tlenu azotu w wydychanym powietrzu jest wyznacznikiem stanu zapalnego w astmie, może pośrednio określać zapotrzebowanie na leki przeciwzapalne.

Z powyższych względów cel rozprawy – ocena metabolizmu L-argininy u dzieci z astmą oskrzelową w okresie zaostrzenia choroby w porównaniu do metabolizmu tego aminokwasu w astmie tzw. kontrolowanej – bez nasilenia objawów, założony przez Doktoranta i jego promotorów uważam za ważny i merytorycznie uzasadniony.

W realizacji celu rozprawy Doktorant dokonał:

- pomiarów aktywności arginazy – kluczowego enzymu metabolizmu argininy
- badań stężeń argininy i jej metabolitów – cytruliny i ornityny
- pomiarów zawartości tlenu azotu w wydychanym powietrzu
- oceny wyników ankietowych Testu Kontroli Astmy w korelacji do wykładników metabolizmu argininy
- oceny oddziaływania stosowanych glukokortykoidów na badany fragment metabolizmu.

Materiałem biologicznym do badań była krew żylna, pobierana na skrzep od 66 dzieci w wieku 5-17 lat, podzielonych na trzy grupy, jednej kontrolnej i dwóch badanych z astmą: kontrolowaną (bez nasilenia objawów chorobowych) oraz grupę z zaostrzeniem procesu chorobowego.

Na przeprowadzone badania Autor rozprawy uzyskał zgodę rodziców badanych dzieci oraz zgodę Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Oceniana rozprawa obejmuje 75 stron wydruku komputerowego, 13 rycin, 12 tabel i 171 pozycji piśmiennictwa. Jest podzielona na typowe rozdziały.

W bogato ilustrowanym wstępie, Autor przedstawia podstawowe informacje dotyczące astmy oskrzelowej, z uwzględnieniem astmy u dzieci, jak i patogenezy tej choroby. Kolejne podrozdziały wstępu w sposób wyczerpujący prezentują metabolizm argininy z uwzględnieniem roli tego

aminokwasu w patomechanizmie astmy. Ostatni z podrozdziałów w sposób obszerny prezentuje arginazę - kluczowy enzym w degradacji argininy.

Cel pracy jest merytorycznie uzasadniony, stosunkowo jasno sprecyzowany. Część metodologiczna rozprawy uwzględnia szczegółowe informacje – procedury kliniczne - związane z pozyskiwaniem materiału do badań, opisy metod laboratoryjnych – klasycznej metody spektrofotometrycznej i metod wysokosprawnej chromatografii cieczowej, oceny biodostępności argininy oraz metodologię testów ankietowych powiązanych z astmą. W dalszej części tego rozdziału Autor opisuje zastosowane metody statystyczne.

Wyniki badań własnych Doktorant przedstawił na 6 czytelnych rycinach i w 9 tabelach. W obszernej dyskusji uzasadnia celowość wykonywanych eksperymentów, konfrontuje wyniki badań własnych z obserwacjami innych autorów. Ciekawy fragment dyskusji obejmuje problem suplementacji argininy w przebiegu astmy u dzieci. W zestawie cytowanej literatury dominują publikacje z lat dwutysięcznych, a kilka z lat ostatnich.

Rozprawę podsumowuje sześć wniosków. Drugie zdanie wniosku pierwszego uważam za mocno dyskusyjne. Pojedyncze wyniki oceny aktywności arginazy, nawet w grupie dzieci zdrowych, wskazują na relatywnie wysoką aktywność tego enzymu. Należy również dodać, że dieta, zwłaszcza bogatobiałkowa, może modulować aktywność enzymów cyklu mocznikowego, a więc i arginazy.

Generalnie stwierdzam, że oceniana rozprawa została przygotowana starannie, napisana jest poprawnym językiem, zawiera w miarę poprawną terminologię biochemiczną. Podczas lektury rozprawy znalazłem tylko nieliczne błędy edytorskie.

Z obowiązku recenzenta chciałbym przedstawić pewne drobne niejasności, które odnalazłem w trakcie wnikliwej lektury rozprawy oraz sugestie, które mogą być użyteczne w przygotowaniu publikacji do druku:

1. W streszczeniu, w zdaniu: *Arginina, aminokwas zasadowy, bierze udział w wielu przemianach metabolicznych - jest wbudowywana do białek komórkowych* – proponuję wykreślić słowo komórkowych, ponieważ arginina wchodzi w skład białek również pozakomórkowych.

2. Proponuję we wstępie (strona 26/27) zmodyfikować opis syntezy kolagenu. W syntezie tego białka bierze udział wyłącznie prolina, a hydroksyprolina powstaje w wyniku posttranslacyjnej modyfikacji – nie jest substratem w syntezie.
3. Z tekstu rozprawy wynika, że do badania włączono 66 dzieci w wieku 5-17, a rycina 6 przedstawia górną granicę wieku 16 lat.
4. Proponuję ujednoczyć opis izoenzymów arginazy. W dyskusji Autor opisuje je prawidłowo: izoenzym AI - cytoplazmatyczny i AII – mitochondrialny. We wstępie Autor przedstawia „stary podział” - arginaza wątrobowa AI i arginaza pozawątrobowa AII.
5. W grupie dzieci bez zaostrzenia choroby (grupa IIA) mierzono stężenie tlenu azotu w wydychanym powietrzu (FeNO). Dlaczego nie oznaczano FeNO w grupie IIB?
6. Proponuję używać nazwy *glukokortykoidy* zamiast *glikokortykosteroidy*. Ta pierwsza jest nazwą bardziej współczesną i prostszą.
7. Pozycja 97 piśmiennictwa jest niepełna w zakresie składu autorów i czasopisma.

Powyższe moje sugestie i uwagi mają w większości charakter polemiczny, raczej typowo biochemiczny i nie podważają merytorycznych założeń treści rozprawy doktorskiej.

Reasumując stwierdzam, iż oceniana praca została zaplanowana, wykonana i napisana poprawnie, świadczy o wiedzy, doświadczeniu i dociekliwości naukowej Doktoranta.

Uważam, że rozprawa doktorska **lek. med. Leszka Kraja** pt: **„Metabolizm L-argininy u dzieci z astmą oskrzelową”**, wykonana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Anny Barańczak – Kuźmy i Pani dr n. med. Alicji Chrzanowskiej w Katedrze i Zakładzie Biochemii I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, **w pełni odpowiada** wymogom stawianym rozprawom doktorskim, jest oryginalna, zawiera elementy nowości naukowej, spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r.

o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016, poz. 882, z późn. zm.).

Dlatego też z pełnym przekonaniem przedkładam Panu Dziekanowi i Wysokiej Radzie I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wnioszek o dopuszczenie wyżej wymienionego do kolejnego etapu przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Biochemii Lekarskiej



prof. dr hab. Krzysztof Sobolewski