



Zakład Diagnostyki Biochemicznej

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

ul. Waszyngtona 15A, 15-269 Białystok

tel. (85) 831-87-26 fax (85) 831-85-85

e-mail: maciej.szmitkowski@umb.edu.pl

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Bartłomieja Sankowskiego p.t. „Ocena stężeń wybranych toksyn mocznicowych we krwi pacjentów ze zmianami zapalnymi kłębuszków nerkowych“

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska jest dziełem o właściwym, klasycznym układzie obejmującym 143 strony maszynopisu i zawierającym 42 tabele, 39 rycin oraz aż 228 pozycji piśmiennictwa.

Przewlekła choroba nerek tak jak cukrzyca należy do schorzeń, które można określić jako podstępne a więc o długim początkowym okresie utajonym. Laboratoryjna diagnostyka przewlekłej choroby nerek opiera się jedynie na ocenie stężenia azotu pozabiałkowego w postaci stężenia mocznika oraz na ocenie stężenia kreatyniny a szczególnie wskaźnika wartości jej przesączania kłębuszkowego (eGFR) o który oparta jest klasyfikacja przewlekłej choroby nerek. Oznacza to że diagnostyka to wyłącznie ocena funkcji nerek. W ostatnich latach pojawił się też parametr oceniający bezpośrednio uszkodzenie tkanki nerkowej i jest to tzw. NGAL, który z trudnością toruje sobie drogę w świadomości lekarzy. Poszukiwanie nowych substancji, które pogłębią diagnostykę chorób nerek należy uznać za ważne i celowe ponieważ mogą to być związki chemiczne uszkadzające inne narządy. Poszukiwania takich związków, które można nazwać toksynami podjął się w swojej pracy doktorskiej mgr Bartłomiej Sankowski.

Doktorant rozpoczyna swoją rozprawę od obszernych informacji o przewlekłej niewydolności nerek wywołanej nefropatią, którą dzieli na nefropatię IgA, nefropatię toczniową i nefropatię stanu zapalnego w kłębuszku. W dalszej części wstępu opisuje toksyny, które są uznawane jako mocznicowe w wyniku upośledzenia filtracji ulegające retencji we krwi. Dzieli je na związki o niskiej oraz wysokiej masie cząsteczkowej rozpuszczalne w środowisku wodnym oraz na toksyny związane z białkami osocza. Ten merytoryczny wstęp autor ściśle łączy z celami swojej pracy, które określa jako ocenę stężenia pięciu wybranych toksyn mocznicowych we krwi pacjentów ze stanami zapalnymi kłębuszków nerkowych. Posłużą one do monitorowania funkcji nerek przy zastosowaniu wysoko czułej metody HPLC-MS/MS i pozwolą ocenić wpływ dodatkowych elementów takich jak dieta czy styl życia. Wyniki tych

badan będą porównane z grupą kontrolną osób zdrowych oraz chorych z niewydolnością nerek z innych przyczyn niż glomerulopatie.

Rozdział „Materiał i metody“ szczegółowo opisuje zasady rekrutacji pacjentów do 116 osobowej grupy badanej z chorobą nerek w wieku od 20 do 76 lat. 76 osób cierpiało na nefropatię IgA, 26 na nefropatię toczniową, 14 na inne rodzaje nefropatii. W opisie materiałów zabrakło informacji o grupie kontrolnej, która pojawia się dopiero na końcu rozdziału jako 180 osób zdrowych w wieku od 20 do 90 lat. Na uwagę zasługuje bardzo staranne pobranie materiału do badań połączone z dokładną ankietyzacją. Uzyskany materiał (osocze) przechowywano w temperaturze -80st.C. Przeprowadzone badania polegały na oznaczaniu w osoczu toksyn mocznicowych w oparciu o substancje wzorcowe metodą LC-MS/MS. Oznaczanie stężeń w osoczu dotyczyło toksyn rozpuszczalnych w wodzie osocza takich jak asymetryczna dimetyloarginina (ADMA), symetryczna dimetyloarginina, N-tlenek trimetyloargininy (TMAO). Spośród toksyn wiążących się z białkami oznaczano siarczany p-krezolu (pCS) oraz siarczany indoksyli (IS) Dodatkowo w ocenie funkcji nerek oznaczano stężenie kreatyniny i wyliczano eGFR. Na szczególną uwagę zasługuje fakt posługiwania się substancjami wzorcowymi oznaczanych toksyn i wzorcami wewnętrznymi o czystości powyżej 97%. Uzyskane wyniki oceniano statystycznie sprawdzając normalność rozkładu testem Shapiro-Wilka i do wyników o rozkładzie normalnym stosowano test t-Studenta a dla prób niezależnych stosowano test nieparametryczny U Manna-Withneya.

Rozdział „Wyniki“ rozpoczyna się szczegółowym opracowaniem wyników ankiet zawartych w 5-ciu tabelach. Następną grupą wyników to ocena funkcji nerek u pacjentów z nefropatiami w oparciu o stężenie kreatyniny i eGFR. Z tej oceny autor przechodzi do najważniejszej części wyników badań a więc do stężeń toksyn mocznicowych związanych z białkami oraz rozpuszczalnych w wodzie osocza. Uzyskane wyniki badań poddawane są ocenie korelacji oraz porównaniu stężeń jako ocenę różnic pomiędzy badanymi grupami.

Otrzymane wyniki badań Autor analizował następnie na tle właściwie dobranej i bardzo bogatej literatury światowej na 25-ciu stronach rozdziału „Dyskusja“ i na tej podstawie doszedł do pięciu w pełni uzasadnionych zasadniczych wniosków, z których w pierwszym potwierdza możliwość stosowania czułych metod HPLC-MS/MS do oznaczania wybranych toksyn mocznicowych w osoczu pacjentów z kłębuszkowymi zapaleniami nerek. W drugim wniosku autor przyznaje, iż badane toksyny nie pozwalają różnicować rodzajów nefropatii ale w następnym wniosku widzi możliwość oceny funkcji poszczególnych struktur nefronu. Proponuje też uznanie toksyn mocznicowych jako nowych markerów funkcji nerek o wartości klinicznej podobnej do oceny stężenia kreatyniny i wartości eGFR. Stężenie toksyn w sposób widoczny wzrasta w poszczególnych stadiach progresji przewlekłej choroby nerek. Podkreśla też, że

stężenie toksyn w badanej grupie różni się od grupy chorych z progresją niewydolności nerek z innych przyczyn niż zapalenie kłębuszkowe. W oparciu o przeprowadzoną ankietyzację autor stawia wniosek o braku znaczącego wpływu nawyków żywieniowych i stylu życia na stężenie badanych toksyn mocznicowych.

Podsumowując ocenianą pracę doktorską należy podkreślić, że poza drobnymi błędami redakcyjnymi (np. stężenie we krwi a nie w osoczu lub srowicy) jest to praca realizująca dobrze zaplanowany przez promotora eksperyment naukowy, doprowadzająca do konkretnych diagnostycznych wniosków. Praca jest wykonana bardzo nowoczesnymi metodami i na nowoczesnych urządzeniach, wspaniale udokumentowana matematyczno-statystycznie, a o diagnostycznej i naukowej aktualności i przydatności pracy świadczy także fakt, iż jest ona oparta o bardzo bogatą współczesną literaturę, cytowaną we wstępie i dyskusji. Fakt, iż aż 50% cytowanej literatury pochodzi z ostatnich pięciu lat jest najwyższym dowodem aktualności realizowanego badania. Praca jest napisana i ilustrowana bardzo bogato i starannie a wszystkie przedstawione jej wartości dowodzą, iż Autor wykazuje się znaczącą wiedzą teoretyczną oraz diagnostyczną i jest już dojrzałym pracownikiem nauki.

Jest to też praca w której widać doskonały warsztat i doświadczenie naukowe pana prof. Piotra Wroczyńskiego oraz wkład pracy, nabyte umiejętności i wiedzę Doktoranta. Wykazany wzrost stężenia toksyn związanych z białkami i rozpuszczalnych w wodzie osocza wiąże się z wynikami prac zespołu profesora Janusza Solskiego, który wykazał wzrost luki osmolanej w terminalnych fazach przewlekłej choroby nerek. Ten wzrost luki osmolanej może właśnie być wynikiem wykazanego w tej pracy doktorskiej wzrostu stężeń toksyn mocznicowych, których nie oznacza się rutynowo ze względu na bardzo mały dostęp polskich laboratoriów diagnostycznych do spektrometrów masowych. Temat ten jest mi znany ponieważ pracę zespołu profesora Solskiego miałem przyjemność recenzować.

W oparciu o przedstawione dane stwierdzam, iż zaprezentowana praca spełnia warunki ustawowe będąc oryginalnym i diagnostycznie praktycznym rozwiązaniem problemu naukowego. Oceniam recenzowaną pracę bardzo wysoko i Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego przedkładam wniosek o nadanie mgr Bartłomiejowi Sankowskiemu stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Białystok 10.09.2024 r.

prof. dr hab. med. Maciej Szmitkowski

Podpisuję
z CenCert



Podpisany elektronicznie przez
Maciej Szmitkowski
12.09.2024
13:17:29 +02'00'

