

Prof. dr hab. n med. Edward Kowalczyk

Łódź dn. 7-czerwca-2023r.

Katedra Farmakologii Ogólnej, Klinicznej i Toksykologii

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Karoliny Rogulskiej pt.

**„Wybrane biomarkery diagnostyczne u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki”
przygotowanej pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Danuty Kosik-Boguckiej oraz
dr hab. Iwony Wojciechowskiej- Koszko.**

Recenzję sporządzono w oparciu o pismo Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie z dnia 28.04.2023r. oraz przepisy:

1. Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 roku poz.1789)
2. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku „Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późniejszymi zmianami).
3. Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r., w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. z 2018 roku poz. 261)

Opinia ogólna

Przedstawiona mi do recenzji dysertacja Pani mgr. Karoliny Rogulskiej jest pracą, którą należy ocenić bardzo pozytywnie. Podjęty przez Doktorantkę temat jest aktualny i istotny dla rozwoju wiedzy o transplantologii. Koncepcja badania jest przemyślana, metody badawcze dobrane adekwatnie, a sama praca przygotowana i napisana w sposób świadczący o dużej znajomości tematu.

Ocena szczegółowa

Postęp jaki dokonał się w ostatnich dziesięcioleciach sprawił, że przeszczep nerki stał się ważną terapią pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek. Przeszczep poprawia jakość życia biorców i zmniejsza koszty dializ. W ciągu ostatnich kilku dziesięcioleci dokonał się ważny postęp w zrozumieniu odporności transplantacyjnej, technik chirurgicznych i immunosupresji pacjenta, co ma przełożenie na poprawę przeżycie przeszczepu, zwłaszcza w krótkim okresie. Głównym ograniczeniem medycyny transplantacyjnej jest odrzucenie przeszczepu przez układ odpornościowy biorcy. W tym celu ważne jest, aby posiadać odpowiednie narzędzia do szybkiego i nieinwazyjnego monitorowania biorców po otrzymaniu graftu. Doktorantka w swojej rozprawie podjęła się analizy ośmiu potencjalnych biomarkerów, w tym lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów (NGAL), cząsteczki-1 uszkodzenia nerek (KIM-1), hemokiny 10 z motywem C-X-C (CXCL-10), osteopontyny (OPN), cystatyny C (Cys C), białka wiążącego retinol 4 (RBP-4), jelitowego czynnika trefoilowego 3 (TFF3) i klusteryny (CLU) mogących służyć pomocniczo bądź samodzielnie w rutynowej diagnostyce pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki.

Recenzowana praca zawiera prawidłowy układ. Składa się z 5 rozdziałów: wstępu, hipotezy i celów badawczych, materiałów i metod, wyników i dyskusji. Uzupełniona jest o piśmiennictwo, wykaz skrótów, tabel i rycin, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz załączniki. Praca składa się z 209 stron i zawiera 312 pozycji piśmiennictwa – 8 w języku polskim i 304 w języku angielskim. Rozprawę uzupełniają 48 tabel i 24 ryciny.

We wstępie Doktorantka obszernie opisuje przedmiot swoich badań, począwszy od wyjaśnienia problemu odrzucania w transplantologii do omówienia dokładnie każdego z ośmiu analizowanych biomarkerów z uwzględnieniem ich budowy, funkcji i zastosowania praktycznego w diagnostyce.

W rozdziale Hipoteza i cele badawcze, bardzo dokładnie opisane zostały: cel i założenia pracy, a także spodziewane rezultaty. Doktorantka przystępując do wykonania swoich badań postawiła trzy hipotezy badawcze:

H1. Stężenia biomarkerów zmieniają się istotnie w czasie (dzień, pół roku i rok po transplantacji);

H2. Stężenia biomarkerów korelują istotnie ze stężeniem kreatyniny w tym samym punkcie czasowym;

H3. Wybór metody diagnostycznej wykorzystanej do diagnostyki uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki nie wpływa istotnie na wartość ocenianych biomarkerów.

Głównym, celem pracy była więc ocena biomarkerów wykorzystywanych do diagnostyki uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki z uwzględnieniem dwóch różnych rodzajów testów diagnostycznych służących do ich wykrywania.

Rozdział *Metody badawcze* jest stworzony zgodnie z zasadami pisania prac doktorskich. Grupa badana jest przedstawiona prawidłowo i wyjątkowo szczegółowo. Badaniem objęto również grupę kontrolną. Do analizy biomarkerów z pobranych od badanych w trzech odstępach czasowych próbek - surowicy i moczu zastosowano dwa testy: ELISA oraz fluorymetrii przepływową. Skrupulatnie opisano każdą czynność diagnostyczną i zadbano o klarowność przekazu. Wzbogaceniem są zdjęcia przedstawiające elementy wykonywanej pracy badawczej.

Wykonana analiza statystyczna obejmowała ocenę rozkładu danych za pomocą testu Shapiro-Wilka z uwzględnieniem podziału na grupy badaną i kontrolną oraz oddzielnie dla wartości zmiennych uzyskanych w pierwszym dniu (A), po pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki. W związku z tym, że oceniane zmienne cechował rozkład odbiegający od normalnego Doktorantka zaprezentowała dane w tabelach oraz na wykresach w postaci mediany, wartości minimalnej i maksymalnej oraz dolnego i górnego kwartyła, a testy wykorzystywane w analizach były nieparametryczne.

Uzyskane wyniki są przedstawiono w postaci czytelnych tabel i wykresów. Wykazano istotność statystyczną pomiędzy stężeniem badanych biomarkerów a czasem jaki upłynął od przeszczepienia nerki. Większość badanych parametrów u pacjentów różniła się znacząco od tych samych wskaźników w grupie kontrolnej. Dodatkowo wykazano istotne korelacje pomiędzy biomarkerami, a także pomiędzy stężeniem tych parametrów a stężeniem kreatyniny i wartością eGFR, co wskazuje na istotną rolę tych białek w procesie diagnostycznym u pacjentów po przeszczepie nerki. Okazuje się również, że wybór metody do badań tych biomarkerów ma istotny wpływ na ich stężenie. Wydaje się, że wśród oznaczonych parametrów tylko osteopontyna nie spełnia istotnej roli w monitorowaniu pacjentów po transplantacji.

Bardzo mocnym elementem rozprawy jest *Dyskusja*. Jest ona prowadzona bardzo swobodnie, a jej zakres świadczy o świetnej znajomości tematu i dojrzałości naukowej Doktorantki. Doktorantka wykazuje, że niektóre wyniki analizowanych w Jej pracy biomarkerów, stanowią nowe dane i wzbogacają obecną wiedzę na ich temat.

Wnioski są stworzone skrupulatnie i dotyczą różnych aspektów pracy, co powoduje, że rozprawa ta wnosi wiele nowych odkryć, czym poszerza i wzbogaca polskie piśmiennictwo. Na podstawie wyników badań własnych i innych autorów Doktorantka zauważyła, że spośród przebadanych biomarkerów przede wszystkim lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów, cząsteczka-1 uszkodzenia nerek, cystatyna C, chemokina 10 z motywem C-X-C i jelitowy czynnik trefoilowy 3 mogłyby być wykorzystywane do rutynowej diagnostyki funkcji nerek po transplantacji tego narządu. Oznaczanie równolegle stężenia tych biomarkerów wraz z poziomem kreatyniny i eGFR zarówno w surowicy, jak i moczu pacjentów może dostarczać przydatnych informacji diagnostycznych. Jak podkreśla Autorka, wiedza dotyczącą biomarkerów uszkodzenia nerek, może być wykorzystana w przyszłości, do stworzenia listy tych biomarkerów, które mogłyby się stać samodzielnymi parametrami do oceny funkcji nerki po przeszczepieniu. Nie bez znaczenia jest również rodzaj metody diagnostycznej stosowanej do ich wykrywania. Z obserwacji poczynionych przez Doktorantkę wynika, że wybór metody diagnostycznej (ELISA lub xMap Luminex) wpływał na wartość stężenie większości badanych biomarkerów w surowicy lub moczu z wyjątkiem oznaczania stężenia osteopontyny.

Streszczenie pracy zostało zredagowane poprawnie i zawiera opisy wszystkich najistotniejszych elementów rozprawy.

Ograniczeniem pracy jest mała liczebność grupy badanej oraz brak informacji o immunosupresji. Wiemy, że współczesne terapie immunosupresyjne znacznie zmniejszyły ostre odrzucenie, czyniąc późne odrzucenie główną przyczyną utraty przeszczepu. Ze względu na dość specyficzną grupę pacjentów oraz szeroki panel biomarkerów oznaczonych dwiema metodami, nie umniejsza to wartości merytorycznej pracy.

Konkluzja

Dysertacja Pani mgr. Karoliny Rogulskiej pt. „ Wybrane biomarkery diagnostyczne u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki” stanowi samodzielne rozwiązanie problemu naukowego i jest dowodem dużej wiedzy teoretycznej Autorki, a zatem w pełni spełnia kryteria rozprawy naukowej na tytuł doktora. Mam zatem zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Naukowej dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie wniosek o dopuszczenie mgr Karoliny Rogulskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. . Ponadto pragnę nadmienić, że Doktorantka popełniła publikację w renomowanym czasopiśmie, w którym jest pierwszym autorem. W 2022 roku opublikowała pracę pt: "The most promising biomarkers of allogeneic kidney transplant rejection" na łamach czasopisma Journal of Immunology Research (IF – 4.493; MNiSW - 100 pkt).

W związku z powyższym wnioskuję o uznanie recenzowanej przeze mnie pracy za wyróżniającą.