



I Klinika Nefrologii i Transplantologii
z Ośrodkiem Dializ
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Białystok 2022,03,20

Ocena rozprawy doktorskiej

Lekarz Anny Surówki

**„ Wpływ przewlekłego leczenia immunosupresyjnego na rozwój
miażdżycy w aorcie brzusznej szczurów”**

Najskuteczniejszą metodą leczenia schyłkowej przewlekłej niewydolności nerek jest przeszczep nerki. Dzięki temu zabiegowi stan zdrowia oraz jakość życia chorych szybko ulega poprawie. Od wielu już lat przeszczepienie nerki jest metodą z wyboru w leczeniu przewlekłej niewydolności nerek. Wprowadzeniu przede wszystkim lepszego leczenia immunosupresyjnego pozwoliło, iż transplantacja narządów unaczynionych stało się zabiegiem powszechnie wykonywanym. W leczeniu immunosupresyjnym stosuje się schematy składające się z zastosowania kilku leków o różnym mechanizmie działania, obecnie najpowszechniejsze jest stosowanie trzech leków immunosupresyjnych. Jednak leki immunosupresyjne wykazują wiele działań ubocznych.

Problemy miażdżycowe w naczyniach powszechnie występują u pacjentów poddawanych leczeniu immunosupresyjnemu. W piśmiennictwie niewiele jest badań oceniających wpływ przewlekłego stosowania najczęstszych trójlekowych schematów leczenia immunosupresyjnego na morfologię i funkcję ściany naczynia. Poznanie efektów leczenia leków immunosupresyjnych stosowanych w różnych trójlekowych schematach na ścianę naczynia mogłoby zapewne pomóc w wyborze najbardziej optymalnego schematu leczenia.

Doktorantka w pracy którą została mi przedstawiona do recenzji za cel rozprawy postawiła zbadanie czy przewlekłe stosowanie trójlekowych schematów leczenia immunosupresyjnego u biorców narządu miało wpływ na morfologię aorty brzusznej szczurów oraz ekspresję metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMPs) i ich inhibitorów. Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej to grupa kilkunastu endopeptydaz wpływającą między innymi na macierz zewnątrzkomórkową (ECM), która jest kluczowym elementem ściany aorty. Poznanie zależności pomiędzy ekspresją metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP-1, MMP-2 i MMP-9) i ich inhibitorów (TIMP-1, TIMP-2) a zaburzeniami morfologicznymi w ścianie aorty szczurów w przebiegu przewlekłego leczenia immunosupresyjnego powszechnie stosowanymi trójlekowymi schematami podawania leków immunosupresyjnych uważam za cel jak najbardziej ciekawy, mało poznany i warty podjęcia pracy.

Przedstawiona mi do oceny praca ma typowy układ. Liczy 67 stron, 7 tabel, 4 ryciny, oraz 1 rysunek. Praca cytuje 111 pozycji piśmiennictwa, głównie anglojęzycznego z ostatnich lat dotyczącego badanych zagadnień. Streszczenie pracy jest zarówno w języku polskim jak i angielskim.

Praca jest zaplanowana i przeprowadzona prawidłowo. Obszerny wstęp uzasadnia celowość podjętych badań. Materiał i metody przedstawione zostały przejrzysto, bardzo dokładnie i pozwalają na powtórzenie badań. W sposób czytelny przedstawiono zasady podziału badanych grup zwierząt. Wyniki są logiczną konsekwencją uzyskanych rezultatów.

Autorka bardzo dokładnie przedstawiła kryteria przygotowania zwierząt, podziału grup, stosowania leków i wszystkich etapów przeprowadzenia badania.

Badania przeprowadzono na aortach brzusznych pozyskanych od szczurów samców szczepu Wstar. Doświadczenia rozpoczęto na 14 tygodniowych szczurach pozyskanych z licencjonowanej hodowli Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi. Do badania zakwalifikowano 36 osobników o średniej masie ciała 305 g. Szczury umieszczono w klatkach po 6 osobników w zwierzętarni PUM. Wszystkie szczury przeżyły 2 tygodniowy okres adaptacji. Następnie zwierzęta podzielono na 6 grup po 6 osobników w każdej grupie. Było 5 grup badanych, którym podawano kombinacje leków odpowiadające trójlekowym schematom leczenia immunosupresyjnego i jedna grupa kontrolna, która nie otrzymywała żadnych leków. Zastosowane schematy leczenia immunosupresyjnego:

Takrolimus+ Rapamycyna + Glikokortykosteroid

Cyklosporyna + Rapamycyna + Glikokortykosteroid

Cyklosporyna + Mykofenolan mofetylu + Glikokortykosteroid

Takrolimus + Mykofenolan mofetylu + Glikokortykosteroid

Mykofenolan mofetylu + Rapamycyna + Glikokortykosteroid

Szczury otrzymywały leki co 24 godziny przez 6 miesięcy w dawkach odpowiadających stosowanych u ludzi. W międzyczasie po 3 miesiącach od rozpoczęcia doświadczenia zwierzęta ponownie ważono i dawki dostosowywano do aktualnej wagi zwierzęcia. Zwierzęta otrzymywały leki doustnie w formie kulek chlebowych grupa kontrolna otrzymywała kulki chlebowe bez leku.

Doświadczenia nie przeżyły dwa szczury z grupy cyklosporyna + rapamycyna + glikokortykosteroid . Po 6 miesiącach doświadczenia w badaniu sekcyjnym pobrano fragmenty aorty od każdego szczura. Następnie przeprowadzono analizę morfologiczną i morfometryczną preparatów aorty (dokładnie jest to omówione w pracy), oraz przeprowadzono badania immunohistochemiczne w celu immunolokalizacji metaloproteinazy 2 i 9, oraz ich inhibitorów TIMP-2 i TIMP-1. Na końcu oceniano metodą półilościowa poziom ekspresji i lokalizacje tych metaloproteinaz i inhibitorów. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy pomocy programu Statistica 13.

W uzyskanych wynikach doktorantka stwierdziła, iż przewlekłe leczenie immunosupresyjne zaburza równowagę ekspresji między metaloproteinazami a inhibitorami MMP/TIMP co wpływa na zmiany morfologiczne, morfometryczne i funkcję ściany aorty. Najbardziej niekorzystnie działały schematy w których wchodził inhibitor kalcyneuryny cyklosporyna lub takrolimus, najbardziej wyraźne zmiany w budowie ściany naczyń zauważono w grupach: cyklosporyna+ rapamycyna+ glikokortykosteroid oraz w grupie takrolimus + mykofenolan mofetylu +glikokortykosteroid.

Występowały jednak różnice w działaniu tych dwóch leków. Doktorantka wykazała, iż schemat na bazie takrolimusa stymulował proces włóknienia medii aorty szczurów i w przeciwieństwie do cyklosporyny nie zwiększał ekspresji MMPs.

Wykazała również, iż takrolimus niwelował ochronne antyproliferacyjne działanie mykofenolanu mofetylu.

Zaś połączenie mykofenolanu mofetilu z rapamycną bez inhibitora kalcyneuryny nie powodowało wystąpienia istotnych zmian morfologicznych oraz morfometrycznych w ścianie aorty szczura.

Wyniki uzyskane przez doktorantkę są ciekawe, inspirują do dalszych badań. Niezwykle ważne w pracy doktorantki jest długi okres obserwacji badanych zwierząt co odpowiada kilkunastoletniemu stosowaniu tych leków u ludzi.

Doktorantka oceniła i porównała wyniki uzyskane przez siebie z wynikami i danymi literaturowymi. Opisała je w sposób rzetelny i odpowiednio krytycznie odnosząc się do własnych wyników. Świadczy to o dużej wiedzy doktorantki, jak również o umiejętności interpretacji uzyskanych wyników.

Na podstawie uzyskanych wyników doktorantka wysunęła 7 wniosków wynikających z uzyskanych wyników.

Uwagi recenzenta:

Oceniana rozprawa doktorska nie budzi żadnych zastrzeżeń merytorycznych, a wymienione poniżej uwagi mają przede wszystkim charakter korektorski lub redakcyjny.

W wykazie stosowanych skrótów błędy literowe np. w skrócie DNA kwas dezoksyrybonukleinowy brak jest litery y. Podobnie HLA – układ zgodności tkankowej człowieka jest człowiek.

Wydaje mi się iż dobrze byłoby w wykazie skrótów podać też wyjaśnienia liter ze schematów leczenia trójlekowego

Piśmiennictwo:

W piśmiennictwie również drobne błędy np. w pozycji 73 brak jest nazwy czasopisma a pozycji 83 brak podanych numeru tomu i stron.

Podsumowanie recenzji

Pomimo tych drobnych krytycznych uwag (głównie edytorskich) należy podkreślić, rzetelność jej wykonania, umiejętność skonfrontowania własnych wyników z danymi literaturowymi oraz potencjalne aspekty praktyczne i kliniczne tej pracy. Praca doktorska udowodniła dobrą znajomości przez doktorantkę zagadnienia, które na pewno wymaga dalszych badań. Wydaje się, iż wyniki uzyskane przez doktorantkę mogą mieć duże większe znaczenie praktyczne co wymaga jednak potwierdzenie w badaniach na ludziach. Na podkreślenie zasługuje,

iz duża część wyników pracy już zostało opublikowane w postaci publikacji w 2021 w dobrym czasopiśmie Int J Med. Sci 2021:18: 1502-1509 (Impact factor 3,738, 70 pkt MEiN). Wnioskuje o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Z merytorycznego punkty widzenia wyrażam opinię, że oceniana rozprawa stanowi istotny wkład do wiedzy o działaniu leków immunosupresyjnych.

Rozprawa doktorska lek. Anny Surówki spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.)”

Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie lek. Anny Surówki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

7049654
Prof. dr hab. Jacek Malyszko
specjalista nefrologa, hipertensjolog
transplantolog kliniczny
choroby wewnętrzne

