

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Świebody pt. „**Model zwierzęcy hiperoksalurii indukowanej zwiększoną podażą hydroksyproliny w diecie**”.

Mimo znaczących postępów w poznaniu etiologii, diagnostyce oraz terapii, kamica nerkowa nadal stanowi poważne wyzwanie dla współczesnej medycyny. Wzrost zachorowań na kamicę nerkową obserwowany w krajach rozwiniętych związany jest głównie z niewłaściwą, bogatą w produkty białkowe dietą, niską podażą płynów oraz siedzącym trybem życia. Ze względu na częstość występowania, udowodniony ogólnoustrojowy charakter oraz znaczenie społeczne, schorzenie to coraz częściej uznaje się za chorobę cywilizacyjną. Hiperoksaluria, charakteryzująca się zwiększonym wydalaniem szczawianów w moczu jest jednym z najważniejszych zaburzeń metabolicznych prowadzących do rozwoju kamicy nerkowej. Badania przedkliniczne prowadzone na zwierzętach, obok badań in vitro stanowią cenne, często również niezbędne narzędzie badawcze w procesie opracowywania nowych leków. Należy podkreślić jednakże, że stosowane do tej pory, głównie mysie i szczurze modele hiperoksalurii nie spełniają oczekiwań badaczy. Jest to spowodowane brakiem podobieństwa fizjologicznego do organizmu człowieka oraz toksycznym oddziaływaniem na organizm zwierzęcia induktorów tego procesu. W tym kontekście, podjęte przez Panią mgr Paulinę Świebodę badania mające na celu opracowanie nowego modelu hiperoksalurii, który został oparty na zwiększonej podaży hydroksyproliny w diecie świń, należy uznać za niezwykle cenną propozycję dla badaczy zajmujących się tym zagadnieniem. W pracy

założono, że dzięki wysokiemu podobieństwu funkcjonalnemu układu moczowego człowieka i świni oraz odpowiedniemu dawkowaniu induktora, możliwe będzie wyeliminowanie wad dotychczas stosowanych zwierzęcych modeli hiperoksalurii.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska o typowym układzie dla prac eksperymentalnych liczy 166 stron, składa się z 10 rozdziałów i została poprzedzona streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz wykazem stosowanych skrótów. Pracę kończy wykaz piśmiennictwa składający się z 244 pozycji opublikowanych głównie w XXI i pod koniec XX wieku.

W obszernym, liczącym 41 stron wstępie, autorka w sposób kompetentny, świadczący o doskonałym opanowaniu piśmiennictwa przedstawiła wszystkie zagadnienia związane z tematem ocenianej rozprawy doktorskiej. Rozdział rozpoczyna się od krótkiego wprowadzenia oraz zwięzłego opisu anatomii i funkcji nerek człowieka. Następnie, autorka skupiła się nad charakterystyką kamicy nerkowej prezentując aktualny stan wiedzy dotyczący epidemiologii, patogenezы, profilaktyki oraz terapii tego schorzenia. Zdaniem recenzenta wartościowym dla czytelnika uzupełnieniem byłaby tabela zbiorcza przedstawiająca korzystne i niekorzystne czynniki ryzyka kamicy nerkowej. W dalszej części rozdziału przedstawiono informacje na temat modeli zwierzęcych stosowanych w badaniach nad kamicą nerkową ze szczególnym uwzględnieniem hiperoksalurii. Wstęp kończy obszerna charakterystyka dekarboksylazy szczawianowej i opis potencjalnych możliwości zastosowania tego enzymu w profilaktyce oraz terapii kamicy nerkowej. Podsumowując, za opracowanie wstępu należą się autorce słowa najwyższego uznania, a cały rozdział zasługuje na odrębne opracowanie typu artykułu przeglądowego.

Założenia badawcze przedstawione w celu pracy obejmowały dwa zagadnienia, opracowanie zwierzęcego modelu odwracalnej hiperoksalurii i kamicy szczawianowej indukowanej nadmiarem hydroksyproliny w diecie oraz ocenę wpływu dekarboksylazy szczawianowej na wyżej wymienione procesy. Uzasadniono również wybór modelu zwierzęcego z podkreśleniem podobieństwa układu moczowego świni i człowieka.

W rozdziale materiał i metody doktorantka w sposób wyczerpujący opisała warunki utrzymania zwierząt doświadczalnych, przebieg eksperymentów oraz metody analityczne zastosowane do opracowania próbek krwi, moczu, kału oraz tkanek do badań histopatologicznych. Na wyróżnienie zasługuje przedstawienie schematów oraz harmonogramów przebiegu długoterminowych eksperymentów w postaci czytelnych diagramów. W tym miejscu należałoby wyjaśnić dlaczego nie wprowadzono kontroli żywieniowej, grupy zwierząt, którym nie podawano hydroksyproliny przez cały okres trwania eksperymentu. Z drugiej strony należy zdać sobie sprawę, że przeprowadzone przez doktorantkę pracochłonne doświadczenia z użyciem świń są niezwykle kosztowne, i dlatego takie racjonalne podejście należy uznać za uzasadnione.

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów zaprezentowano w postaci 36 rycin oraz 5 tabel. Badania autorki potwierdziły główne założenie badawcze pracy doktorskiej - indukcję odwracalnej hiperoksalurii bez wywoływania toksycznych efektów u badanych zwierząt. Natomiast z powodu braku istotności statystycznej, wyniki drugiego eksperymentu nie pozwoliły jednoznacznie stwierdzić, że podanie dekarboksylazy szczawianowej wpłynęło korzystnie na profil stężenia szczawianów w moczu i surowicy zwierząt z indukowaną hiperoksalurią.

Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na pewne nieścisłości związane z prezentacją wyników:

- należy ujednolicić numerację rycin i tabel, które powtarzają się w kolejnych rozdziałach pracy.
- ocena makroskopowa nerek – jak określano wielkość nerek, do czego porównywano badane nerki, w opisie użyto określenia nerka naturalna.
- ryciny 16-19 niepotrzebnie w podpisie rycin użyto wyrażenia „zmiana średniego dobowego wydalania moczu”
- znak istotności statystycznej - użyto takich samych gwiazdek dla różnych porównań
- str. 102, opis wydalania szczawianów w grupie szczurów HP+ i OxDc jest niezgodny z wykresem
- str. 107, opis wydalania kreatyniny w grupach HP+ i OxDc jest niezgodny z wykresem
- str. 111 i 115, opisy tendencji spadkowej/wzrostowej w grupach HP+ i OxDc przedstawione są na wyrost, brak istotności statystycznej

Po części wynikowej pracy doktorskiej autorka prezentuje 8 wniosków, które zostały podzielone na dwie części odpowiednio po 4 dla każdego eksperymentu. Zdaniem recenzenta obie grupy wniosków można połączyć ograniczając jednocześnie ich liczbę. Wniosek 4 z drugiego eksperymentu jest wspólny dla obu doświadczeń, wnioski nr 3 dotyczące odwracalności indukowanej hiperoksalurii można przedstawić jako jeden. Natomiast wniosek 1 z II eksperymentu ze względu na brak istotności statystycznej uzyskanych wyników należy sformułować inaczej. Wyniki z użyciem dekarboksylazy szczawianowej mogą sugerować pewien trend, który należałoby zweryfikować w dalszych badaniach zwiększając liczbę zwierząt w grupach badanych. Należy również zwrócić uwagę, że wnioski jako podsumowanie całej pracy doktorskiej zwyczajowo umieszcza się po dyskusji wyników.

Obszerna i wyczerpująca dyskusja wyników obok wstępu również zasługuje na wyróżnienie. Autorka w sposób swobodny i ciekawy interpretuje wyniki własne na tle doświadczeń innych autorów. Przeprowadzona przez doktorantkę analiza piśmiennictwa pozwala wnioskować, że opracowany nowy model indukowanej hiperoksalurii pozbawiony jest wad modeli zwierzęcych stosowanych do tej pory. W związku z tym może stanowić w przyszłości użyteczne narzędzie dla badaczy zajmujących się kamicią nerkową.

Konkludując, stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Pauliny Świebody pt „Model zwierzęcy hiperoksalurii indukowanej zwiększoną podażą hydroksyproliny w diecie” spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Stanowi wartościowe opracowanie nie tylko pod względem naukowym, ale również aplikacyjnym. Praca została napisana bardzo dobrym językiem, starannie opracowana pod względem edytorskim, a całe opracowanie świadczy o dużej dojrzałości naukowej doktorantki.

W związku z jednoznacznie pozytywną oceną, mimo przedstawionych powyżej uwag przedkładam Radzie Naukowej Instytutu Medycyny Wsi w Lublinie wniosek o dopuszczenie mgr Pauliny Świebody do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Biologii Medycznej

Prof. dr hab. Wojciech Rzeski