



**Zakład Medycyny Populacyjnej i Prewencji Chorób Cywilizacyjnych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Waszyngtona 13a, 15-269 Białystok
Tel./fax 85 68 65 371**

Białystok, 4.08.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Elżbiety Radajewskiej, pt. „Poszukiwanie nowych sposobów protekcji nerek w zespole metabolicznym i uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym. Pozytywny efekt działania antyoksydantów”,

Rozprawa doktorska została napisana pod kierunkiem dr hab. n. farm. Iwony Bil-Lula (prof. uczelni, promotor) i dr n. farm. Anny Krzywonos-Zawadzkiej (promotor pomocniczy) i wykonana w Katedrze Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Główną funkcją nerek jest wytwarzanie moczu, za pośrednictwem którego z organizmu usuwane są liczne związki chemiczne, które w wysokich stężeniach mają toksyczny wpływ na organizm, np. mocznik, kwas moczowy, metabolity leków i innych substancji chemicznych. Nerki wpływają tym samym między innymi na stan płynów ustrojowych, filtrując i zatrzymując niezbędne składniki osocza, a także biorą udział w wydalaniu szkodliwych i zbędnych produktów przemiany materii. A zatem dobrostan nerek jest bardzo istotny do zachowania zdrowia i prawidłowego funkcjonowania wielu układów i narządów. Dlatego też zgadzam się ze stwierdzeniem Doktorantki, iż „istotne jest dokładniejsze poznanie mechanizmów prowadzących do uszkodzenia nerek oraz poszukiwanie sposobów zapobiegania uszkodzeniu nerek lub leczenia chorób nerek”.

Jednym z czynników uszkadzających nerki jest stres oksydacyjny, który może prowadzić do uszkodzenia nerek oraz zaburzeń w wydalaniu wielu toksyn z organizmu. Występuje on w przebiegu wielu chorób, m. in. w cukrzycy, zaburzeniach metabolicznych, np. w zespole metabolicznym (MetS), w chorobach tarczycy, w chorobach nowotworowych

oraz w uszkodzeniu niedokrwiennie-reperfuzyjnym (IRI). Insulinooporność, wraz ze stresem oksydacyjnym i stanem zapalnym, może powodować wzrost albuminurii i przyczyniać się do pogarszania funkcji nerek oraz rozwoju nadciśnienia tętniczego, spowodowanego zwiększoną kanalikową reabsorpcją sodu. Dlatego tak ważne jest zachowanie równowagi między produkcją oksydantów i działaniem związków o potencjale antyoksydacyjnym, co może przyczynić się do ochrony nerek w przebiegu przewlekłych chorób układowych i zmniejszeniu uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego (IRI) w procesie transplantacji nerki.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska nie jest opracowaniem o klasycznej strukturze, a zbiorem opublikowanych prac powiązanych tematycznie. Podczas przygotowywania pracy zachowano wg mnie trochę nielogiczną kolejność, tj. „Opis dorobku naukowego” (Rozdział III) „Wykaz dorobku naukowego” (Rozdział IV); „Wykaz Publikacji i doniesień naukowych” (Rozdział V); „Pozostałe osiągnięcia” (Rozdział VI) – powinny być umieszczone w dalszej części rozprawy lub po rozdziale XI „Podsumowanie i wnioski”. Według mnie Autorka powinna skupić się na układzie pracy, rozpoczynając - w miejsce Rozdziału III – od rozdziału VII „Wstęp pracy”, który odpowiada części teoretycznej, z zamieszczeniem pracy pogładowej. Oczywiście pragnę zastrzec, iż powyższy układ „Rozprawy doktorskiej” nie jest błędem, a cała zawartość pracy jest merytorycznie w pełni prawidłowa i zgodna z wymaganiami dotyczącymi rozpraw doktorskich.

Dysertację rozpoczyna streszczenie w języku polskim i angielskim, gdzie Autorka w sposób bardzo klarowny i zrozumiały przedstawiła założenia i cele rozprawy doktorskiej, metodykę, uzyskane wyniki i podsumowanie rozprawy doktorskiej. Według mnie samo streszczenie powinno być trochę krótsze (liczy prawie 4 strony) i skupić się na najważniejszych wynikach pracy. Aczkolwiek ze względu na mnogość uzyskanych danych

rozumiem chęć Autorki do zaprezentowania wszystkich istotnych wyników rozprawy doktorskiej, które mają znaczenie kliniczne i naukowe.

W rozdziale III „Opis dorobku naukowego” Autorka przedstawiła swój dorobek naukowy, poczynając od udziału w Studenckim Kole Naukowym, badaniach w Szkole Doktorskiej i udziału w różnych grantach badawczych. Efektem jak widać intensywnej pracy naukowej Doktorantki jest dorobek naukowy, wskazany na str. 16 (Rozdział IV – Wykaz dorobku naukowego”, wynoszący 33,605 pkt IF i 780 pkt MNSW/MNiE. Szczegółowe przedstawienie wszystkich publikacji i doniesień naukowych zamieszczono w Rozdziale V. „Wykaz Publikacji i Doniesień naukowych”. Pragnę zauważyć i podkreślić, iż w większości publikacji Doktorantka jest pierwszym lub drugim współautorem, co świadczy o jej dużym zaangażowaniu naukowym. W Rozdziale VI. „Pozostałe osiągnięcia” Autorka przedstawia swój udział w 6. projektach naukowych, z czego w dwóch finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (w jednym jest Kierownikiem – projekt „Preludium”). Ponadto Doktorantka jest Laureatką 7. Nagród i Wyróżnień naukowych. Odebrała także dwa staże zagraniczne oraz uczestniczyła w 6. „Innych aktywnościach naukowych”. Podsumowując, uważam, iż Autorka posiada wysoki dorobek naukowy, poparty dużym doświadczeniem w realizacji projektów naukowych oraz ważnym doświadczeniem naukowym, zdobytym podczas staży zagranicznych – co oceniam celująco.

We „Wstępie” (Rozdział VII), liczącym 16 stron, Doktorantka w sposób wyczerpujący wprowadza w temat rozprawy doktorskiej, tj. chorób nerek i transplantacji nerki jako metody terapeutycznej. Omawia ponadto ostre i przewlekłe uszkodzenia nerek i rolę w tym aspekcie stresu oksydacyjnego. Ponadto wyczerpująco omawia mechanizm uszkodzenia niedorkwiennie-reperfuzyjnego nerek (IRI), a także znaczenia stresu oksydacyjnego w zespole metabolicznym. Przedstawiła również szczegółowo budowę, działanie i zastosowanie

Mitoquinonu, a także ekstraktu ze skórek granatu – jako czynników o działaniu antyoksydacyjnym i zmniejszającym szkodliwe następstwa stresu oksydacyjnego.

W Rozdziale VIII doktorantka przedstawiła „Cel i założenia pracy”. Głównym celem badań była „Ocena wpływu działania stresu oksydacyjnego w wybranych patomechanizmach uszkodzenia nerki oraz zbadanie protekcyjnego działania związków antyoksydacyjnych”. Cele szczegółowe zamieszczono ponadto w pięciu punktach. Samo zaprezentowanie w ten sposób celu rozprawy doktorskiej jest jasne i wyczerpujące. Według mojej oceny cel pracy został zaprezentowany krótko i bardzo zrozumiale, a sam pomysł Autorki, dotyczący oceny roli stresu oksydacyjnego w wybranych patomechanizmach uszkodzenia nerki oraz zbadanie protekcyjnego działania związków antyoksydacyjnych uważam za bardzo nowatorski i zarazem – potrzebny obecnej wiedzy medycznej.

W Rozdziale IX „Materiały i metody” (12 stron) Autorka przedstawiała stosowane metody badawcze, wykorzystywane do realizacji przedstawionego celu badawczego. Badania eksperymentalne zostały przeprowadzone z wykorzystaniem dwóch modeli badawczych, tj. szczurzego modelu zespołu metabolicznego oraz izolowanych nerek szczurzych – perfundowanych przy użyciu systemu do zimnej perfuzji maszynowej. Według mojej oceny Doktorantka w sposób wyczerpujący, zrozumiały, a zwłaszcza z zamieszczonymi i starannie wykonanymi kolorowymi rycinami i schematami - omówiła zastosowane metody badawcze powyższej rozprawy doktorskiej. Na uwagę zasługuje fakt, iż zastosowane metody badawcze były bardzo pracochłonne, a zarazem nowatorskie, a sam ich właściwy dobór (za co należy się uznanie również Promotorowi pracy), w tym również testów analizy statystycznej, w pełni pozwolił na realizację postawionego celu i założeń badawczych, a to znalazło odzwierciedlenie w publikacji wyników w czasopiśmie o wysokim IF.

W rozdziale X „Omówienie wyników publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej” Doktorantka przedstawiła załączone prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej jako: jedna praca przeglądowa, uzupełniająca *de facto* szczegółowo informacje zawarte w rozdziale „Wstęp” oraz uzyskane wyniki badań w postaci dwóch publikacji badawczych, wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (wszystkie prace załączono na końcu Rozprawy doktorskiej w formie załącznika nr 1).

W publikacji przeglądowej, pt. „*Recent Methods of Kidney Storage and Therapeutic Possibilities of Transplant Kidney*” Autorka przedstawiła dotychczasowe osiągnięcia w zakresie ochrony nerki przed wykonaniem zabiegu przeszczepienia oraz rozwiązania terapeutyczne, zaproponowane przez naukowców, mające zmniejszyć skutki IRI oraz zwiększenie puli dostępnych organów. Należy zauważyć, iż powyższa publikacja stanowi współczesny przegląd literatury na temat obecnie dostępnych metod przechowywania nerki w procesie transplantacji i najnowsze doniesienia w obszarze prowadzonych badań nad ulepszeniem procesu przechowywania i perfuzji narządu. W pracy zaprezentowano także interesujące doniesienia na temat terapii z wykorzystaniem znanych leków, antyoksydantów, terapii komórkowej oraz molekularnej. Dodatkowo przedstawiono prawdopodobne kierunki rozwoju i wykorzystania różnych technik maszynowej perfuzji, w zależności od przypadku medycznego. Według mojej oceny powyższa praca wnosi bardzo dużo cennych informacji i jest wręcz „skarbnicą” najnowszej wiedzy w tym aspekcie, jednakże ze względu na to, iż jest pracą poglądową to powinna być umieszczona w rozdziale „Wstęp”. Należy zauważyć, iż w powyższym artykule wykorzystano fachowe i współczesne piśmiennictwo, gdyż 71. z 85. cytowań (83%) pochodziło z ostatnich 15. lat.

W artykule, pt. „*Punica granatum L. Polyphenolic Extract as an Antioxidant to Prevent Kidney Injury in Metabolic Syndrome Rats.*” autorka zaprezentowała uzyskane wyniki w 9. Rycinach i 1. Tabeli – według mnie - dość czytelnych i starannie opracowanych,

ze względu na bardzo dużą ilość zaprezentowanych danych. Zaprezentowane w niniejszej publikacji wyniki wskazują, że zespół metaboliczny może wpływać na zwiększony stres oksydacyjny w tkance nerkowej, a w konsekwencji powodować uszkodzenie nerek. Doktorantka wykazała ponadto, iż ekstrakt z *Punica granatum L.* może mieć działanie antyoksydacyjne i prooksydacyjne, w zależności od stężenia, a samo przyjmowanie ekstraktu ze skórek granatu może obniżać stężenie wolnych rodników i modyfikować wewnętrzny system enzymów antyoksydacyjnych, co według mojej oceny może mieć znaczenie prewencyjne i ochronne na nerki. Autorka ponadto wskazuje, iż *Punica granatum L.* może być wykorzystywany jako potencjalny środek leczniczy w przebiegu zespołu metabolicznego, w kontekście ochrony nerek przed AKI i progresji choroby, co według mnie jest bardzo odkrywcze. Należy zauważyć, iż w powyższym artykule wykorzystano fachowe i współczesne piśmiennictwo, gdyż 62. z 84. cytowań (73%) pochodziło z ostatnich 15. lat.

W artykule, pt. „Mitoquinone Alleviates Donation after Cardiac Death Kidney Injury during Hypothermic Machine Perfusion in Rat Model” autorka zaprezentowała uzyskane wyniki w 7. Rycinach i 1. Tabeli – według mnie - czytelnych i starannie opracowanych, ze względu na bardzo dużą ilość zaprezentowanych danych. Autorka stwierdziła, że wydłużony czas ciepłego niedokrwienia wpływa negatywnie na nerkę, promując uszkodzenie perfundowanej nerki przed procesem transplantacji. Doktorantka zaobserwowała, iż działanie preparatu MitoQ spowodowało obniżenie stężenie reaktywnych form tlenu i azotu, kaspazy 3. i 9. – enzymów biorących udział w apoptozie komórki, co świadczy iż jest on dobrym kandydatem do poprawy kondycji nerek DCD poddanych zimnej maszynowej perfuzji, co według mojej oceny jest odkrywcze. Należy zauważyć, iż w powyższym artykule wykorzystano fachowe i współczesne piśmiennictwo, gdyż 36. z 44. cytowań (82%) pochodziło z ostatnich 15. lat.

W rozdziale XI „Podsumowanie i wnioski” Autorka podsumowała uzyskane wyniki badań, poprzez dwa konkretne wnioski, według mojej oceny zgodne z założeniami Rozprawy doktorskiej. Doktorantka stwierdziła, iż zwiększona aktywność oksydacyjna komórek nerki wpływa na pogorszenie stanu narządu w przebiegu zespołu metabolicznego i w nerkach pobranych do transplantacji, a zastosowanie związków antyoksydacyjnych w postaci naturalnych związków (wyciąg ze skórki granatu) oraz syntetycznych środków farmakologicznych (MitoQ) wiąże się z redukcją nasilonego stresu oksydacyjnego i działaniem nefroprotekcijnym. Powyżej wnioski uważam za odkrywcze, zwłaszcza w aspekcie wykorzystania tych danych w praktyce klinicznej.

Z obowiązku jako Recenzenta przedłożonej rozprawy doktorskiej chciałbym wskazać na nieliczne błędy literowe, co świadczy o staranności napisanej rozprawy doktorskiej. Podobnie jak pisałem wcześniej – zamieniłbym może kolejność rozdziałów i podrozdziałów. Wskazane przeze mnie niedociągnięcia nie ujmują w żadnym wypadku wysokiej jakości merytorycznej powyższej rozprawy doktorskiej.

Podsumowując uważam, iż przedłożona do recenzji dysertacja jest przemyślaną oraz dobrze napisaną pracą i zawiera wszystkie wymagane elementy związane z rozprawą doktorską. Stanowi zbiór trzech publikacji, które zostały opublikowane w cenionych czasopismach naukowych, a łączny wskaźnik Impact Factor wyniósł 10,3 i 260 pkt MNiSW. Wyniki badań przedstawiono w publikacjach w sposób logiczny, rzetelny i przejrzysty, co potwierdza umiejętność Doktorantki w projektowaniu i prowadzeniu prac badawczych. Należy jeszcze raz podkreślić, iż uzyskanie wyników badań wymagało od Autorki ogromnego wysiłku i pracowitości, co cechuje zastosowane metody badawcze. W związku z powyższym wnioskuję o uznanie powyższej dysertacji za wyróżniającą się.

Ponadto należy zauważyć, iż Doktorantka, będąc na początku swojej kariery naukowej, obecnie posiada znaczący dorobek naukowy, tzn. jest współautorem 8. publikacji naukowych o łącznym IF=36,605 i 780 pkt MNiSW, a także 1. monografii naukowej oraz 14. streszczeń zjazdowych, co odzwierciedla wysoką aktywność naukową Autorki, zarówno w kraju jak i za granicą.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska, autorstwa Pani mgr Anny Elżbiety Radajewskiej, pt. „Poszukiwanie nowych sposobów protekcji nerek w zespole metabolicznym i uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym. Pozytywny efekt działania antyoksydantów” spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.). W związku z powyższym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy Pani mgr Anny Elżbiety Radajewskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora oraz o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Podpis recenzenta

Prof. dr hab. Sławomir Ławicki