

Prof. dr hab. med. Janusz Strzelczyk

Kierownik Kliniki Chirurgii Ogólnej i Transplantacyjnej

II Katedry Chirurgii

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi



Ocena

Rozprawy doktorskiej lek. dent. Katarzyny Kotowskiej zatytułowanej „Wpływ polimorfizmów genów kodujących białko wiążące witaminę D DBP rs2282679 oraz hydroksylazę CYP2R1 rs 10741657 na terapię przy użyciu inhibitorów kalcyneuryny”.

Promotor pracy: prof. dr hab. Jerzy Sieńko

Promotor pomocniczy prof. dr hab. Grzegorz Trybek

Niewydolności narządowa jest bardzo istotnym problemem, z którym boryka się współczesna medycyna. Poczesne miejsce w walce z nią zajmuje przeszczepianie narządów. W przypadku nerek kliniczne zastosowanie tej procedury rozpoczęło się na początku lat pięćdziesiątych ubiegłego stulecia. Początkowo ograniczone do przeszczepień od żywych spokrewnionych dawców- najczęściej bliźniąt jednojajowych- wkrótce wkroczyło w okres burzliwego rozwoju. Związane to było z wprowadzeniem leków immunosupresyjnych oraz wykorzystaniem narządów od dawców zmarłych. Kolejnymi krokami milowymi było zastosowanie nowych generacji leków umożliwiających coraz szersze wykorzystanie narządów. Wraz z rozwojem

asortymentu leków stosowanych w postępowaniu immunosupresyjnym pojawiły się nowe problemy. Inhibitory kalcyneuryny, które stały się podstawą tego leczenia okazały się lekami bardzo kapryśnymi. Oprócz niewątpliwych zalet posiadały wiele wad, jednym z problemów, które wymagały szybkiego rozwiązania była optymalizacja ich dawkowania. Dotychczasowe sposoby podnoszenia bądź obniżania dawki leku w oparciu o stężenie kreatyniny i mocznika okazują się niewystarczające. Pojawiły się doniesienia o ścisłej zależności pomiędzy efektywnymi stężeniami inhibitorów kalcyneuryny a metabolizmem witaminy D. Jej rola u chorych z rozpoczynającą się i zaawansowaną niewydolnością nerek jak również u chorych po udanej transplantacji jest nie do przecenienia.

Tym zagadnieniem- indywidualną zmiennością metabolizmu tej witaminy i jej zależnością od polimorfizmu genów kodujących białka aktywne w tym metabolizmie postanowiła się zająć koleżanka Katarzyna Kotowska.

Zaprojektowała i wykonała pracę oceniającą wpływ tych polimorfizmów na metabolizm cyklosporyny i takrolimusu.

Jej efektem jest przedstawiona mi do oceny dysertacja.

Jest ona napisana w układzie typowym i składa się z dwunastu rozdziałów – są to: wykaz stosowanych skrótów, wstęp, cel pracy, metodyka, wyniki, dyskusja, wnioski. Uzupełniają je- streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografia, spis tabel i spis rycin. Całość napisana jest klarownym językiem i zredagowana w sposób ułatwiający czytanie, co jest bardzo istotne wzięwszy pod uwagę specjalistyczny charakter pracy.

Analizę materiału Doktorantka poprzedziła krótkim, ale bogatym w treść wstępem omawiającym epidemiologię i klasyfikację

Celem pracy Doktorantki jest analiza wpływu polimorfizmu CYP2R1 rs 10741657 genu dla 25-hydroksylazy oraz polimorfizmu GC rs2282679 genu dla białka wiążącego witaminę D na dawkowanie inhibitorów kalcyneuryny w grupie pacjentów po przeszczepieniu nerki.

Rozdział zatytułowany „Materiały i metodyka” dokładnie omawia teoretyczne założenia pracy, Autorka omawia w nim kryteria włączenie pacjentów do badania. Objęło ono 412 pacjentów poddanych przeszczepieniu nerki. Wiek pacjentów – od 18 do 80 roku życia, byli oni leczeni immunoterapią obejmującą jeden z inhibitorów kalcyneuryny – u 227 chorych był to takrolimus, u 185- cyklosporyna. Pacjenci leczeni byli w Oddziale Nefrologii i Transplantacji Nerek Samodzielnego Publicznego Szpitala Wojewódzkiego w Szczecinie. Badania kliniczne przeprowadzono przy udziale Kliniki Chirurgii Ogólnej i Transplantacyjnej Pomorskiej Akademii Medycznej, Zakładu Patologii Ogólnej PUM oraz Poradni Transplantologicznej SPWSZ w Szczecinie.

Badania genetyczne zostały przeprowadzone na materiale biologicznym zgromadzonym w ramach realizacji grantu naukowego pt. ” Znaczenie czynników farmakogenetycznych w indywidualizacji terapii przy zastosowaniu leków immunosupresyjnych w przeszczepach nerek”- nr UMO- 2011/03/B/NZ7/06550. Badanie polimorfizmów zostało wykonane w Pracowni Farmakogenetyki Doświadczalnej Katedry i Zakładu Farmacji Klinicznej i Biofarmacji oraz Zakładzie Komórek Macierzystych i Medycyny

Regeneracyjnej Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich UM w Poznaniu. Grant naukowy został sfinansowany przez Narodowe Centrum Nauki.

Uczestnikom badania pobierano krew żylną oznaczając w niej stężenie odpowiednio cyklosporyny i takrolimusu. Badania genetyczne polimorfizmu białka wiążącego witaminę D ( rs2282679 ) oraz 25-hydroksylazy CYP2R1 ( rs10741657 ) przeprowadzono na opisanym powyżej materiale biologicznym mrożonym w temperaturze -20 st.C

Izolacja genomowego DNA została wykonana przy użyciu zestawu zgodnie z protokołem producenta QIAamp Mini Blood ( Qiagen, Niemcy ).

Analizę polimorfizmów rs2282679 oraz rs10741657 została wykonana metodą real-time PCR przy użyciu sprzętu firmy Roche Diagnostics. Do genotypowania wykorzystano sondy hybrydizacyjne jako barwniki fluorescencyjne znakowane SimpleProbe.

Stężenie cyklosporyny i takrolimusu określano we krwi pełnej, na czczo. Analizy zostały wykonane przy pomocy analizatora ARCHITECT i2000SR formy Abbott.

Dla każdego pacjenta wyliczono wskaźnik C/D ( Concentration/Dose ).

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej stosując algorytm Random Forest a następnie Classification and Regression Trees- Statistica 13.1.

Analizę uzupełniono testami ANOVA wraz z testem post-hoc Tukeya w przypadku rozkładu normalnego zmiennych oraz testem Kuskala-Wallisadla zmiennych nie spełniających tego postulatu. Do oceny normalności rozkładu zastosowano test Shapiro-Wilka.

Wyniki Doktorantka zawarła w 4 tabelach i pięciu rycinach a ich podsumowanie zawarła w formie 8 krótkich stwierdzeń.

Ze swej pracy Doktorantka wysnuwa cztery wnioski, które w logiczny sposób stanowią odpowiedź na pytanie zadane w rozdziale zatytułowanym Cel pracy.

Są to:

1. Warianty polimorficzne GC ( rs2282679 ) genu dla białka wiążącego witaminę D mają znaczenie w ustalaniu dawkowania cyklosporyny A w grupie pacjentów po przeszczepieniu nerki.
2. Analiza algorytmem drzew decyzyjnych nie wykazała predykcyjnego znaczenia polimorfizmu CYP2R1 ( rs10741657 ) genu dla hydroksylazy w badanym modelu.
3. Zmienności genetyczne mające wpływ na stężenie witaminy D mogą mieć pośredni wpływ na wielkość dawki leczenia immunosupresyjnego przy użyciu inhibitorów kalcyneuryny.

Rozprawa zakończona jest syntetycznym streszczeniem i wykazem 159 pozycji starannie wyselekcjonowanego piśmiennictwa. Całość rozprawy została opracowana z dużym nakładem pracy i starannością, znalazłem w niej tylko kilka drobnych błędów edytorskich. Jedyną uwagą jest nieco zbyt skromny wykaz skrótów- w tekście jest ich więcej. Uzupełnienie tego wykazu ułatwiłoby czytanie tego bardzo specjalistycznego tekstu.

Praca wykonana przez Doktorantkę jest niewątpliwie bardzo nowatorska. Jej praktyczne zastosowanie pozwoliłoby na znacznie dokładniejsze i

indywidualizowane programowanie leczenia immunosupresyjnego dla każdego chorego leczonego przeszczepieniem nerki. Z całą pewnością można by uniknąć powikłań związanych z zarówno zbyt dużą jak i zbyt małą dawką inhibitorów kalcyneuryny. Przekładając to na język bardziej zbliżony do punktu widzenia pacjenta- uniknąć niepotrzebnego odrzucania narządu jak i jego dysfunkcji z powodu zbyt dużej dawki leku.

Czytając tę pracę recenzent nie może się oprzeć wspomnieniu rozmowy ( sprzed wielu lat ) z luminarzem światowej transplantologii. Powiedział mi : Xenotransplantation is a bright future of transplantology. And it always will be”

Pomylił się.

Ci, którzy nie doceniają zupełnie nowych pomysłów w leczeniu chorych też się mylą.

Wysoko oceniam założenia i wykonanie przedstawionej pracy.

Fakt, że w piśmiennictwie – w sposób bardzo dojrzały wybranym i dyskutowanym – znajduje się stosunkowo niewielka ilość prac ściśle dotyczących tematu badanego przez Doktorantkę świadczy o pionierskim charakterze prac

Uważam , że praca lek. dent. Katarzyny Kotowskiej zatytułowana „Wpływ polimorfizmów genów kodujących białko wiążące witaminę D DBP rs2282679 oraz hydroksylazę CYP2R1 rs 10741657 na terapię przy użyciu inhibitorów kalcyneuryny” w pełni spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. 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. ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późniejszymi zmianami)”. W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenia lekarza dentysty Katarzyny Kotowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na przedstawione powyżej walory pracy Recenzent wnosi o jej wyróżnienie.

Prof. dr hab. med. Janusz Strzelczyk

Prof. dr hab. med.  
**JANUSZ STRZELCZYK**  
specjalista chirurgii ogólnej  
i transplantologii  
3479302