

Sosnowiec, 27.07.2023

Prof. dr hab. n. farm. Joanna Folwarczna  
Katedra i Zakład Farmakologii  
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu  
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Marty Ziemińskiej pt. „Rola endogennej witaminy K w procesie przebudowy kości szczurów z eksperymentalną przewlekłą chorobą nerek”**

Pani mgr Marta Ziemińska wykonała pracę doktorską pt. „Rola endogennej witaminy K w procesie przebudowy kości szczurów z eksperymentalną przewlekłą chorobą nerek” pod kierunkiem promotora Pani prof. dr hab. n. med. Krystyny Pawlak i promotora pomocniczego dr n. med. Beaty Siekluckiej w Zakładzie Farmakoterapii Monitorowanej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Rozprawa doktorska została przygotowana na podstawie dwóch artykułów: poglądowego i eksperymentalnego, opublikowanych w czasopiśmie *Nutrients* w latach 2021 i 2022.

Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej mgr Marty Ziemińskiej stanowią kontynuację i znaczące rozwinięcie wcześniejszych prac Pani prof. Krystyny Pawlak i Jej Zespołu, dotyczących mechanizmów rozwoju zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej w przewlekłej chorobie nerek (PChN), prowadzonych z wykorzystaniem modelu szczurzego PChN. Problem wspomnianych powikłań PChN, określanych jako zaburzenia mineralne i kostne w PChN (*chronic kidney disease-mineral and bone disorders; CKD-MBD*), prowadzących do znacznego zwiększenia ryzyka złamań i przedwczesnej śmierci, stanowi poważny problem zdrowia publicznego. Poznanie patomechanizmów CKD-MBD jest konieczne dla prowadzenia właściwej terapii. Witamina K jest niezbędna m.in. dla karboksylacji osteokalcyny, składnika macierzy kostnej i uznanego markera kościotworzenia. Od lat prowadzone są, bez większego powodzenia, badania nad ewentualnym wykorzystaniem suplementacji witaminy K w celu profilaktyki osteoporozy. Niedobór witaminy K u pacjentów z PChN może odgrywać znaczącą rolę w rozwoju CKD-MBD. W związku z tym badania podjęte przez Doktorantkę, dotyczące roli witaminy K w regulacji

przebudowy kości u szczurów z PChN, były w pełni uzasadnione.

Podstawę recenzowanej pracy doktorskiej stanowią dwa artykuły o łącznym wskaźniku oddziaływania (*impact factor*) wynoszącym w czasie składania pracy 13,412 i liczbie punktów MEiN wynoszącej 280. Jako pierwszą opublikowano pracę pogładową autorstwa M. Ziemińskiej, B. Siekluckiej i K. Pawlak: „*Vitamin K and D supplementation and bone health in chronic kidney disease - apart or together?*” (*Nutrients*, 2021, 13(3): 809), liczącą 34 strony, jako drugą – pracę doświadczalną autorstwa M. Ziemińskiej, D. Pawlaka, B. Siekluckiej, K. Chilkiewicz i K. Pawlak: „*Vitamin K-dependent carboxylation of osteocalcin in bone – ally or adversary of bone mineral status in rats with experimental chronic kidney disease?*” (*Nutrients*, 2022, 14 (19): 4082), liczącą 18 stron. Według załączonych oświadczeń współautorów prac wkład Doktorantki w ich przygotowanie wynosił 70% (praca pogładowa) i 55% (praca eksperymentalna). Na podstawie przedstawionej dokumentacji można stwierdzić, że indywidualny wkład mgr Marty Ziemińskiej w przygotowanie publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej był wystarczająco znaczny.

Wymienione wyżej publikacje zostały włączone do rozprawy doktorskiej mgr Marty Ziemińskiej. Rozprawa ma typowy układ dla prac doktorskich. W jej skład wchodzi wstęp, w którym przedstawiono zaburzenia mineralno-kostne w PChN, przebudowę kości i status witaminy K u pacjentów z PChN. W rozdziale tym Doktorantka wykorzystała informacje przedstawione znacznie szerzej w publikacji pogładowej, wchodzącej w skład rozprawy. W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawiła cele pracy, którymi były: kompleksowa ocena metabolizmu witaminy K, określenie stężeń białek zależnych od witaminy K w surowicy oraz kości, ocena recyklingu witaminy K w kości oraz ustalenie ewentualnego związku pomiędzy poziomem białek zależnych od witaminy K a stanem mineralnym kości u szczurów z eksperymentalnie wywołaną PChN. W następnym rozdziale skrótowo zostały opisane zastosowane materiały i metody, szczegółowo przedstawione w publikacji oryginalnej. Rozdział “Omówienie wyników badań” jest w pełni zgodny z tytułem. Doktorantka nie tylko przedyskutowała wyniki, ale także przeniosła wszystkie ryciny z publikacji (moim zdaniem nie było to konieczne – wystarczyłyby odnośniki do artykułu). Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka sformułowała 4 prawidłowe wnioski. Rozdział “Bibliografia” zawiera 87 pozycji literaturowych zacytowanych w tekście rozprawy. Należy tu podkreślić, że bibliografia do publikacji pogładowej liczy 241 pozycji, a do publikacji oryginalnej – 85. Praca zawiera także streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, a także spis dorobku naukowego oraz stosowne oświadczenia Doktorantki

i pozostałych autorów publikacji. Łącznie rozprawa liczy 111 stron (w tym kopie publikacji i wspomnianych wyżej oświadczeń).

Założone cele badawcze Doktorantka zrealizowała w badaniach w modelu szczurzym PChN (model subtotalnej nefrektomii 5/6, przeprowadzonej u 4-tygodniowych szczurów). Po 24 tygodniach od zabiegu oznaczono badane parametry: stężenia witaminy K1 i menachinonów (MK; MK-4 i MK-7) w surowicy, stężenia białek zależnych od witaminy K (całkowitej osteokalcyny i jej formy nieukarboksylowanej, a także nieukarboksylowanego białka Gla macierzy) w surowicy i homogenatach kości gąbczastej i zbitej oraz ekspresji genów zaangażowanych w recykling witaminy K w homogenatach kości gąbczastej i zbitej. Uzyskane wyniki poddano szczegółowej analizie statystycznej, także w celu wykrycia ewentualnych korelacji. Dla interpretacji uzyskanych wyników do analiz statystycznych włączono też wyniki dotyczące ogólnych parametrów biochemicznych surowicy, ekspresji genów związanych z osteoblastogenezą oraz pomiarów densytometrycznych kości, uzyskane u zwierząt wykorzystanych do realizacji pracy doktorskiej, opublikowane wcześniej (*Pawlak, D.; Znorko, B.; Kałaska, B.; Domaniewski, T.; Zawadzki, R.; Lipowicz, P.; Doroszko, M.; Łebkowska, U.; Grabowski, P.; Pawlak, K. LP533401 restores bone health in 5/6 nephrectomized rats by a decrease of gut-derived serotonin and regulation of serum phosphate through the inhibition of phosphate co-transporters expression in the kidneys. Bone. 2018, 113: 124–136*).

Doktorantka wykazała, że w tkance kostnej u szczurów występuje zestaw enzymów umożliwiający recykling witaminy K oraz przekształcanie roślinnej witaminy K1 (filochinonu) do postaci witaminy K2 – menachinonów MK-4 i MK-7, a także że u szczurów z eksperymentalną PChN dochodzi do przyspieszonego przekształcania witaminy K1 do menachinonów MK-4 i MK-7. Wykazała, że w kościach szczurów z PChN, u których występowała nadczynność przytarczyc, mimo właściwych stężeń form witaminy K dochodziło do zaburzenia mineralizacji kości. Przeprowadzone analizy korelacji sugerują niekorzystną rolę karboksylowanej osteokalcyny w mineralizacji kości w przebiegu PChN. Stężenia całkowitej osteokalcyny i jej formy nieukarboksylowanej w surowicy uległy zwiększeniu u szczurów z PChN. Obserwacja ta wskazuje, że oznaczanie stężeń osteokalcyny i jej formy nieukarboksylowanej jako wskaźników niedoboru witaminy K może nie być uzasadnione u pacjentów z PChN.

Podsumowując, pracę doktorską mgr Marty Ziemińskiej, jak również wchodzące w jej skład rozprawy publikacje, oceniam bardzo wysoko pod względem merytorycznym. Praca

poglądowa bardzo szczegółowo przedstawia dotychczasowe badania dotyczące roli witaminy K w kościach za szczególnym uwzględnieniem PChN; dodatkowo praca dotyczy również problemów związanych z zaburzeniami metabolizmu witaminy D w PChN. Praca eksperymentalna przedstawia powiązania między przemianami witaminy K, poziomem osteokalcyny i jej formy nieukarboksylowanej, a stanem kości, wyżej już omówione.

Rozprawa doktorska mgr Marty Ziemińskiej została napisana w sposób jasny, zrozumiały dla niespecjalisty. Chciałabym podkreślić bardzo staranną redakcję pracy. Zauważyłam tylko kilka nieścisłości, które wymieniam z obowiązku recenzenta:

- str. 7 i 11 – przedstawione zostało niewłaściwe rozwinięcie skrótu RANKL;
- str. 11 – podano niewłaściwą definicję osteopetrozy;
- str. 12 – podano informację, że białka macierzy Gła uczestniczą w procesach krzepnięcia – proszę o wyjaśnienie.

Z kwestii merytorycznych, bardzo proszę o wyjaśnienie, dlaczego w tytule rozprawy użyte zostało sformułowanie “endogenna witamina K”. Nawet jeśli przemiany witaminy K1 do menachinonów MK-4 i MK-7 zachodzą w organizmie, nie jest to możliwe bez dostarczenia z zewnątrz aktywnego prekursora (tj. witaminy K1). Poza tym MK-4 i MK-7 mogły też pochodzić z pożywienia lub syntezy przez bakterie jelitowe.

Rozprawa doktorska Pani mgr Marty Ziemińskiej wykazała Jej ogólną wiedzę teoretyczną i umiejętność prowadzenia pracy naukowej oraz właściwego przedstawiania wyników. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, dotyczącego roli witaminy K w procesie przebudowy kości w modelu eksperymentalnym PChN u szczurów. Spełnione zostały warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce; tekst jednolity – Dz.U. z 2022 r. poz. 574 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym mam zaszczyt przedstawić Wysokiemu Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

## **WNIOSEK**

**o dopuszczenie Pani mgr Marty Ziemińskiej do dalszych etapów postępowania  
w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu,  
dyscyplinie nauki medyczne.**

Jednocześnie, ze względu na wysoką wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej składam wniosek o rozważenie przez Senat możliwości wyróżnienia rozprawy doktorskiej Pani mgr Marty Ziemińskiej.

*Janusz Tokarski*

