



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki

ul. Święcickiego 6
60-781 Poznań

tel. 061 854 64 37
fax 061 8546430
e-mail: glowka@ump.edu.pl

Prof. dr hab. Franciszek Główka, prof. zw.

Poznań 21 czerwca 2021 r.

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr. Adriana Łukasza Mora pt. *Wpływ inhibitora hydroksylazy tryptofanu LP533401 na parakrynnny układ kimureninowy tkanki kostnej w doświadczalnym modelu przewlekłej choroby nerek*, w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Dokumentacja zawarta we wniosku Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, stanowiąca podstawę wykonania oceny, spełnia wymogi zawarte w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018, poz. 1668 ze zm.).

Praca doktorska została wykonana w Zakładzie Farmakodynamiki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem prof. dr. hab. Dariusza Pawlaka. Wyniki badań jak i materiał teoretyczny zostały częściowo opublikowane w dwóch pełnotekstowych pracach badawczych w renomowanych czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej.

1. Adrian Mor, Bartłomiej Kalaska, Dariusz Pawlak: *Kynurenine Pathway in Chronic Kidney Disease: What's Old, What's New, and What's Next?* International Journal of Tryptophan Research, 2020 Review Article. <https://doi.org/10.1177/1178646920954882>
2. Adrian Mor, Krystyna Pawlak, Bartłomiej Kalaska, Tomasz Domaniewski, Beata Sieklucka, Marta Zieminska, Bogdan Cylwik, Dariusz Pawlak: *Modulation of the Paracrine Kynurenic System in Bone as a New Regulator of Osteoblastogenesis and Bone Mineral Status in an Animal Model of Chronic Kidney Disease Treated with*

LP533401. *Int J Mol Sci.* 2020 Sep; 21(17): 5979. W tej sytuacji zadanie recenzenta staje się swego rodzaju formalnością.

Układ rozprawy doktorskiej jest typowy dla tego rodzaju prac. Na początku Doktorant zamieścił temat rozprawy, informację o cyklu prac, w jakiej dziedzinie i dyscyplinie rozprawa została przygotowana oraz dane promotora rozprawy. W dalszej części zawarł spis treści rozprawy doktorskiej, która obejmuje 13 rozdziałów, a całość zawarta jest na 69 stronach. Załączone zostały dwie wymienione publikacje oraz stosowane w pracy skróty. We wprowadzeniu Doktorant szczegółowo i ze znanstwem przedstawił zagadnienia związane z przewlekłą chorobą nerek. W dalszej kolejności przedstawił cel pracy wraz z merytorycznym uzasadnieniem podjętej tematyki badawczej. W rozdziale 4 omówił realizację celu badawczego, stosowane materiały i metody badawcze. Całość rozprawy wieńczy dyskusja wyników i podsumowanie w postaci czterech wniosków (rozdział 5). Piśmiennictwo obejmuje 92 pozycje literaturowe. W dalszej części zawarł streszczenie w języku polskim i angielskim. Konsekwencją wieloautorskich prac jest konieczność zamieszczenia oświadczeń poszczególnych autorów o ich udziale w przygotowaniu publikacji. Takie oświadczenia zostały załączone. Udział Doktoranta, jako pierwszego autora, w przygotowanie pracy przeglądowej (*Int. J. Tryptophan Res.*, 2020), jest dominujący-80%, i polegał na zebraniu i dogłębnym przeglądzie literatury oraz przygotowaniu manuskryptu. Podobnie, jako dominujący należy też uznać udział w drugiej pracy, już o charakterze doświadczalnym (*Int. J. Mol. Sci.*, 2020). Udział mgr A. Mora w tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań przy współudziale promotora, planu badań, wykonaniu części eksperymentalnej, analizie statystycznej, interpretacji wyników i przygotowaniu manuskryptu. Ponieważ oprócz Doktoranta, więcej osób uczestniczyło w części eksperymentalnej wskazane byłoby wyszczególnić jakie prace badawcze wykonał Doktorant. Całość dopełnia zgoda kierownika Zakładu Farmakodynamiki UMB na wykorzystanie materiału badawczego pobranego przy realizacji grantu badawczego, dotyczącego badań związanych z osteoporozą w przewlekłej niewydolności nerek. Na badania autorzy uzyskali w 2013 r. zgodę Lokalnej Komisji Bioetycznej ds. Badań na Zwierzętach.

W końcowym rozdziale mgr A. Mor przedstawił swój dorobek wyrażony współczynnikiem IF 9,921 i punktacją MNiSW wynoszącą 420 pkt. Złożyło się na to pięć pełnotekstowych publikacji, w większości o cyrkulacji międzynarodowej. W

czterech pracach jest pierwszym autorem. Jest też współautorem siedmiu doniesień zjazdowych prezentowanych w kraju, jak i za granicą włączając w to przekazy internetowe. W mojej ocenie jest to znaczący, jak na początkującego naukowca dorobek naukowy i może być dobrym prognostykiem dalszego rozwoju kariery naukowej obecnego Doktoranta.

Problematyka badawcza realizacji, której podjął się mgr Adrian Mor dotyczy istotnego zagadnienia współczesnej cywilizacji, jakim jest przewlekła choroba nerek (PChN). Światowa Organizacja Zdrowia wymienia PChN jako główną przyczynę przedwczesnych zgonów na świecie. Szacuje się, że 13% populacji światowej jest dotkniętych PChN. Przewlekła choroba nerek stała się jedną z chorób cywilizacyjnych XXI wieku. Wg badań PolNef 18% populacji polskiej ma czynność nerek poniżej normy, a 11% dorosłej populacji utraciło ponad połowę czynności, ocenianej współczynnikiem filtracji kłębuszkowej (eGFR < 60 ml/min/1.73 m²). Do znaczących i wcześniej występujących powikłań towarzyszących PChN należą zaburzenia mineralne i kostne określane terminem CKD-MBD (chronic kidney disease – mineral and bone disorder). Właśnie zaburzenia metabolizmu aminokwasów, w tym przemiana tryptofanu do serotoniny przy udziale hydroksylazy tryptofanu wydają się stanowić zasadniczy czynnik rozwoju zaburzeń mineralnych i kostnych. Tematyka ta stała się przedmiotem badań zespołu naukowców pod kierunkiem prof. Dariusza Pawlaka.

Istotnym czynnikiem mogącym modyfikować biosyntezę serotoniny jest hamowanie aktywności izoformy 1 hydroksylazy tryptofanu (TPH-1) przez związek określany jako LP-533401, który reguluje produkcję serotoniny w jelitach. Bardziej znaczącym kierunkiem przemiany tryptofanu, który wskazał Doktorant jest szlak kinureninowy. Wyniki badań nad oddziaływaniem szlaku kinureninowego na przebieg PChN mogą istotnie przyczynić się zaproponowania nowych rozwiązań w zakresie terapii PChN, o czym zapowiada Doktorant we wprowadzeniu do zagadnień badawczych. Podjęcie badań mających na celu poznanie złożonego mechanizmu oddziaływania hamowania syntezy serotoniny na aktywność szlaku kinureninowego oraz konsekwencje dla zaburzeń mineralnych oraz parametrów tkanki kostnej jest jak najbardziej zasadne zarówno w aspekcie poznawczym, jak i praktycznym.

Dyskusję wyników badań Doktorant prowadzi w dojrzały sposób, nawiązując do najnowszych osiągnięć badawczych w świecie obejmujących osteodystrofię nerkową. Uzyskane wyniki nad aktywnością obwodowego szlaku kinureninowego pozwoliły na sformułowania kilku istotnych wniosków końcowych. Wartościowym odkryciem, które w pierwszej chwili może budzić wątpliwości, było stwierdzenie braku zależności między stężeniem kinureniny we krwi i w tkance kostnej. Doktorant w sposób wyczerpujący wykazał, że taki wynik badań wskazuje na istnienie w tkance kostnej własnego parakrynnego układu kinureninowego zależnego od aktywności 2,3-dioksygenazy tryptofanowej. Stąd zasadna jest sugestia Doktoranta, że odkrycie to może być przyczynkiem do dalszych badań nad rozszerzeniem wiedzy odnośnie obwodowego metabolizmu tryptofanu. Cennym rezultatem badań jest też ustalenie istnienia powiązań między zwiększeniem ekspresji genów kodujących białka uczestniczące w procesie osteoblastogeny, a zależną od 2,3-dioksygenazy tryptofanowej aktywacją szlaku kinureninowego w tkance kostnej szczurów po podaniu inhibitora hydroksylazy tryptofanu – LCP533401. Wyniki, poza wymiarem poznawczym, wydają się też posiadać w dalszej perspektywie aspekt praktyczny. Mianowicie, mogą przyczynić się do opracowania nowych terapii i skutecznie poprawić jakość życia chorych z przewlekłą chorobą nerek na co zwrócił uwagę Doktorant. Trudno nie zgodzić się z tą oceną.

Realizacja tej ambitnej problematyki zmierzającej do poszerzenia wiedzy dotyczącej zaburzeń mineralnych i kostnych poprzez ustalenie obecności i roli parakrynnego układu kinureninowego, jak i ocena oddziaływania inhibitora izoformy 1 hydroksylazy tryptofanu na ten układ jest oryginalnym osiągnięciem Doktoranta w poznaniu wpływu metabolitów tryptofanu na rozwój osteodystrofii nerkowej.

Przyznaję, że praca napisana jest bardzo dobrze, poprawnym językiem naukowym i z dużym zainteresowaniem ją przeczytałem. Doktorant swobodnie stosuje w pracy terminologię biochemiczną, kliniczną oraz z zakresu patofizjologii. W tej tak skrupulatnie przygotowanej rozprawie doktorskiej nie znalazłem znaczących uchybień stylistycznych czy gramatycznych.

Autor dysertacji umiejętnie posługuje się bogato prezentowaną literaturą specjalistyczną obejmującą zagadnienia poruszane w pracy. W rozprawie zamieścił 92 pozycje. W większości odnosił się do źródeł literaturowych z ostatnich 10 lat. Można znaleźć pozycje znacznie starsze, gdy Doktorant sięgał do początków badań na metabolizmem tryptofanu.

W sposób przekonujący Doktorant sformułował problem badawczy i skutecznie prowadził jego realizację. W tym celu stosował uznane w świecie nauki metody badawcze. Stężenia tryptofanu i kinureny w materiale biologicznym, pochodzącym od szczurów (surowica, mocz, tkanka kostna i jelitowa), były oznaczane metodą HPLC w odwróconym układzie faz, z detektorem DAD. To czego zabrakło mi w tej części, to podanie informacji czy stosowana metoda była walidowana, czy też nie? Poziom ekspresji genów kodujących białko 2,3-diooksygenazy oznaczano za pomocą powszechnie stosowanej w badaniach genetycznych metody ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (PCR-RT). Do oceny wyników Doktorant stosował analizę statystyczną wykorzystując sprawdzone narzędzia statystyczne. W mojej ocenie całość postępowania tworzy spójny sposób realizacji postawionego celu badawczego.

Wysoko oceniam rozprawę doktorską mgr. Adriana Mora, a drobne uwagi nie umniejszają jej wartości merytorycznej. Praca zawiera oryginalne osiągnięcia naukowe obejmujące stwierdzenie obecności zależnego od aktywności 2,3-diooksygenazy tryptofanowej parakrynnego układu kinureninowego w tkance kostnej szczurów z przewlekłą chorobą nerek. Uzyskane wyniki stanowią znaczący krok w poznaniu roli metabolitów tryptofanu w rozwoju osteodystrofii nerkowej. Kandydat do stopnia doktora potwierdził posiadanie szerokiej wiedzy teoretycznej w zakresie roli szlaku kinureninowego w przewlekłej chorobie nerek publikując pracę przeglądową w tym zakresie. Zamieścił też streszczenie rozprawy w języku angielskim. Spełnił więc wymogi stawiane rozprawom doktorskim zawarte w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018, poz. 1668 ze zm.). Na tej podstawie wnioskuję do Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu

Medycznego w Białymstoku o dalsze procedowanie zmierzające do nadania mgr. A. Morowi stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

W nawiązaniu do mojej wysokiej oceny rozprawy doktorskiej mgr. Adriana Mora oraz spełnieniu kryteriów uchwały 141/2019 Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, (IF>4), wnioskuję o wyróżnienie niniejszej rozprawy.

Kierownik Katedry i Zakładu
Farmacji Fizycznej i Farmakokinetyki

Prof. dr hab. *Franciszek Główka*