

Ocena

pracy doktorskiej lek. wet. Natalii Siwińskiej pt.: Diagnostyka wczesnego uszkodzenia nerek u koni przy użyciu badania ultrasonograficznego i biomarkerów w surowicy krwi i moczu.

Ostre uszkodzenie nerek u koni jest zespołem klinicznym rozwijającym się jako powikłanie choroby pierwotnej wskutek hipotensji lub hipowolemii wynikających z chorób morzyskowych, krwotoków, posocznicy, endotoksemii, a także zmian w dystrybucji płynów ustrojowych. Czynnikiem predysponującym do wystąpienia tego zespołu klinicznego są leki nefrotoksyczne i niedostateczna podaż płynów. Do czynników działających nefrotoksycznie zalicza się antybiotyki aminoglikozydowe, tetracyklinę, polimyksynę B, amfoterycynę B, niestereoidowe leki przeciwzapalne oraz odkładanie się barwników (mioglobina, hemoglobina) w kanalikach nerkowych.

Diagnostyka tej przypadłości nie jest prosta, a zastosowanie badania klinicznego, badania laboratoryjnego krwi i moczu nie zawsze prowadzi do postawienia właściwego rozpoznania, zwłaszcza na wczesnym etapie uszkodzenia nerek.

Z tych względów badania podjęte przez Doktorantkę są w pełni aktualne i uzasadnione, ponieważ opracowanie czułych i specyficznych biomarkerów z równoczesnym zastosowaniem ultrasonografii umożliwi diagnostykę AKI na etapie podklinicznym i ograniczy przypadki nieodwracalnej niewydolności nerek. Przedstawiona do recenzji praca liczy 141 stron wydruku komputerowego. Składa się ona ze spisu treści, streszczenia w języku polskim i angielskim, autoreferatu, wykazu publikacji stanowiących podstawę rozprawy, obszernego wstępu opisującego istotę uszkodzenia nerek, diagnostykę zawierającą badanie ultrasonograficzne, klasyczne i nowoczesne biomarkery uszkodzenia nerek, kopię artykułów, wniosków i podsumowania. Podstawę tej pracy doktorskiej stanowi cykl 6 oryginalnych prac naukowych, opublikowanych w latach 2019-2021:

- 1) Manuskrypt I: Siwińska N., Zak A., Słowikowska M., Szczepankiewicz B., Niedźwiedź A., Paśawska U. An assessment of the utility and repeatability of the renal resistive index in horses. PLOS ONE 2019, 14 (12): e0226941. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226941>.
- 2) Manuskrypt II: Siwińska N., Zak A., Słowikowska M., Paśawska U. Renal resistive index as a potential indicator of acute kidney injury in horses. Journal of Equine Veterinary Science 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103662>.
- 3) Manuskrypt III: Siwińska N., Zak A., Słowikowska M., Niedźwiedź A., Paśawska U. Serum symmetric dimethylarginine concentration in healthy horses and horses with acute kidney injury. BMC Vet. Res. 2020, 16, 396. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02621-y>.
- 4) Manuskrypt IV: Siwińska N., Zak A., Paśawska U. Detecting acute kidney injury in horses by measuring the concentration of symmetric dimethylarginine in serum. Acta Vet. Scand. 63, 3 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13028-021-00568-0>.
- 5) Manuskrypt V: Siwińska N., Zak A., Paśawska U. Evaluation of serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C as biomarkers of acute kidney injury in horses. Journal of Veterinary Research 2021, 65. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2021-0025>.
- 6) Manuskrypt VI: Siwińska N., Paśawska U., Bąchor R., Szczepankiewicz B., Żak A., Grocholska P., Szewczuk Z. Evaluation of podocin in urine in horses using qualitative and quantitative methods. PLOS ONE 2020, 15 (10): e0240586. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240586>.

We wszystkich sześciu pracach Doktoranta jest pierwszym autorem. Uwagę zwraca liczba współautorów, niemniej z ich oświadczeń wynika, że Doktorantka odgrywała wiodącą rolę w powstawaniu tych prac i ich publikacji. Należy podkreślić wysoki Impact Factor czasopism, w których prace te zostały opublikowane, co dało bardzo wysoki sumaryczny IF całego cyklu prac (11,292) oraz bardzo wysoką sumaryczną liczbę punktów MNiSW (510 pkt.).

W dość długim wstępie Doktorantka podaje definicję i podział uszkodzenia nerek, częstotliwość występowania, klasyfikację, odnosi się do przyczyn i patofizjologii rozwoju AKI, opisuje objawy kliniczne i diagnostykę opartą o ultrasonografię tradycyjną oraz z użyciem ultrasonografii dopplerowskiej. W dalszej części opisuje klasyczne biomarkery uszkodzenia nerek (kreatynina i mocznik, białko i stosunek białko/kreatynina w moczu, podstawową analizę moczu, wykrywanie enzymów uwalnianych z uszkodzonych komórek kanalików

nerkowych (GGT) oraz klirens sodu) oraz biomarkery nowoczesne (syntetyczna dimetyloarginina, cystatyna C, lipokalina związana żelatynazą neutrofilową, podocyna).

Wprowadzenie jest napisane interesująco, wyjaśnia czytającemu zawitości etiopatogenezy i diagnostyki ostrego uszkodzenia nerek u koni. Jest napisana w oparciu o odpowiednio dobrane, aktualne piśmiennictwo.

Głównym celem badań było wzbogacenie i rozszerzenie możliwości diagnostycznych wczesnego uszkodzenia nerek u koni z wykorzystaniem klasycznego i dopplerowskiego badania ultrasonograficznego oraz wybranych biomarkerów surowicy krwi i moczu.

Doktorantka realizowała 5 szczegółowych celów badawczych:

- 1) Określenie wartości referencyjnych wskaźnika oporu nerkowego (RRI) oraz biomarkerów wczesnego uszkodzenia nerek u koni tj. symetrycznej dimetyloargininy (SDMA), lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilową (NGAL), cystatyny C i podocyny.
- 2) Ocena wpływu czynników pozanerkowych na wartości RRI oraz wybranych biomarkerów wczesnego uszkodzenia nerek.
- 3) Ocena korelacji pomiędzy klasycznymi, a nowoczesnymi biomarkerami uszkodzenia nerek.
- 4) Ocena przydatności wybranych klasycznych i nowoczesnych biomarkerów do wykrycia ostrego uszkodzenia nerek (AKI) a etapie klinicznym i podklinicznym.
- 5) Ocena wpływu czynników potencjalnie nefrotoksycznych na RRI oraz wybrane parametry krwi i moczu u koni.

Dodatkowo postawiła sobie za cel prześledzenie powtarzalności pomiaru RRI u koni zdrowych oraz ustalenie, czy stwierdzenie podocyny w moczu koni będzie możliwe przy zastosowaniu chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrofotometrią mas i wybranej sekwencji peptydu oraz specyficznego gatunkowo testu ELISA, a także czy wyniki uzyskane obiema metodami będą zgodne. Badania Doktorantki pozwoliły określić prawidłowe wartości nerkowego wskaźnika oporu naczyniowego (RRI), symetrycznej dimetyloargininy (SDMA), cystatyny C, lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilową (NGAL) i podocyny u koni z klinicznym i podklinicznym AKI. Wykazała Ona niższą wartość RRI u koni w stosunku do innych gatunków. U koni w grupie ryzyka nie stwierdzono wpływu czynników nefrotoksycznych na wartości RRI, co z klinicznego punktu widzenia daje to temu badaniu małą wartość diagnostyczną.

Badając stężenie SDMA u źrebiąt wykazano wyższe wartości fizjologiczne w porównaniu do koni dorosłych, co powinno być uwzględnione w postępowaniu się wartościami referencyjnymi dla tej grupy wiekowej. U koni z kliniczną postacią AKI stężenie SDMA korelowało z nasilającymi się objawami choroby. Konie z grupy ryzyka AKI wykazywały fizjologiczne wartości tego parametru.

U koni z kliniczną postacią AKI stężenie lipokaliny (NGAL) i cystatyny C było wyższe niż u koni zdrowych, jednak żaden z tych biomarkerów nie wykazał wszystkich koni z azotemią. Oba te parametry w moczu u koni kolkujących (z ryzykiem AKI) były zawyżone w porównaniu do koni zdrowych, co Doktorantka sugeruje, że mogłyby być użyte do wykrywania subklinicznego AKI u koni z zaburzeniami przewodzenia pokarmowego.

Przeprowadzone badania pozwoliły na szczegółową analizę problemu uszkodzenia nerek u koni, w tym na określenie zmian poszczególnych biomarkerów w różnych postaciach dysfunkcji nerek oraz ich stopnia zaawansowania. Biorąc pod uwagę różną specyfikę badanych biomarkerów trudno wskazać i polecić jeden uniwersalny, mający decydującą wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu wczesnego uszkodzenia nerek u koni. Wymaga to dalszych badań nad wypracowaniem panelu biomarkerów surowicy i moczu pozwalających precyzyjniej diagnozować to schorzenie u koni.

Wnioski z przeprowadzonych badań wyciągnięte przez Doktorantkę mają bardziej charakter omówienia uzyskanych wyników niż syntetycznej ich oceny. To wynika prawdopodobnie z wykorzystania do tego celu konkluzji z poszczególnych manuskryptów.

Trudno ocenić recenzentowi materiał zwierzęcy, użyty do wykonania tej pracy, ponieważ w autoreferacie Doktorantka nie wskazuje, czy grupy doświadczalne w poszczególnych pracach powtarzały się, czy były kilka razy wykorzystywane te same zwierzęta, czy w każdym doświadczeniu były inne.

Moje drobne uwagi krytyczne dotyczą jedynie pewnych niedociągnięć redakcyjnych w polskim opisie tych prac. Nie obniżają one bardzo wysokiej oceny recenzowanej pracy, wynikającej z aktualności problematyki, nowoczesności i złożoności metod badawczych oraz naukowego znaczenia uzyskanych wyników. Ocenę tej pracy doktorskiej ułatwia fakt, że jej podstawę stanowi cykl 6 prac opublikowanych w renomowanych czasopismach o wysokim Impact Factor. Przed przyjęciem do druku prace te zostały poddane ocenie przez recenzentów tych czasopism.

Recenzowana praca doktorska odpowiada w pełni warunkom określonym w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Biorąc powyższe pod uwagę wnoszę o dopuszczenie lek. wet. Natalii Siwińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Andrzej Reś