

Dr hab. Paweł Stróżecki  
Klinika Nefrologii, Nadciśnienia Tętniczego  
i Chorób Wewnętrznych  
Collegium Medicum w Bydgoszczy  
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

**Ocena rozprawy doktorskiej  
lekarz Hanny Storoniak  
pod tytułem  
„Gospodarka witaminą B1 u chorych hemodializowanych”.**

**Promotor: Dr hab. med. Przemysław Rutkowski, prof. nadzw. GUMed.**

**Promotor pomocniczy: Dr med. Magdalena Jankowska**

Przewlekła choroba nerek (PChN) jest ogólnoswiatowym problemem zdrowotnym o narastającej zapadalności i chorobowości, wysokich kosztach leczenia oraz złym rokowaniu. Następstwem przewlekłej choroby nerek może być z jednej strony konieczność leczenia nerkozastępczego dializami lub przeszczepieniem nerki, a z drugiej zwiększona śmiertelność całkowita oraz chorobowość i śmiertelność sercowo-naczyniowa. Pomimo upływu lat i ciągłego postępu medycyny ryzyko zgonu chorych hemodializowanych wynosi ponad 15% rocznie, a najczęstszą przyczyną zgonu w tej grupie chorych są choroby układu krążenia.

Wysoka chorobowość i śmiertelność sercowo-naczyniowa w populacji pacjentów z PChN jest następstwem szczególnej kumulacji czynników ryzyka sercowo-naczyniowego – tych tak zwanych „tradycyjnych” – takich jak nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie tytoniu czy zaburzenia lipidowe, jak i „nietradycyjnych”, będących następstwem PChN. Wśród tych ostatnich wymieniane są: zaburzenia mineralne i kostne (CKD-MBD), akumulacja produktów zaawansowanej glikacji, stres oksydacyjny, zaburzenie równowagi krzepnięcia-fibrynoliza, przewlekły stan zapalny, podwyższone stężenie asymetrycznej dimetyloargininy, parathormonu, endoteliny, homocysteiny, nadmierna aktywność układu współczulnego, zwiększona sztywność tętnic, hiperwoleミア i niestabilność hemodynamiczna w czasie zabiegów HD. Ta lista „nietradycyjnych” czynników ryzyka sercowo-naczyniowego wydają się jednak ciągle otwarta.

Kolejnym niezwykle ważnym problemem w populacji chorych hemodializowanych jest niedożywienie. Patogeneza niedożywienia w przebiegu PChN jest złożona, a rolę w niej odgrywiają

między innymi zaburzenia apetytu, zaburzenia wchłaniania i metabolizmu, zaburzenia wewnątrzwydzielnicze, stosowane leki oraz utrata substancji odżywczych w czasie zabiegów hemodializy czy dializy otrzewnowej. Zabieg hemodializy prowadzi do utraty substancji odżywczych takich jak: glukoza, aminokwasy, witaminy czy mikroelementy. Wprowadzenie bardziej wydajnych technik dializacyjnych (dializa high-flux, hemodiafiltracja) może jeszcze bardziej nasilać utratę tych substancji, w tym witamin rozpuszczalnych w wodzie, do których zalicza się witamina B1 (tiamina).

Tiamina odgrywa kluczową rolę w metabolizmie węglowodanów oraz metabolizmie tkanki nerwowej. Niedobór witaminy B1 prowadzi do wielu następstw klinicznych, takich jak niewydolność serca, kwasica mleczanowa, encefalopatia Wernickego, zaburzenia psychiczne, polineuropatia czy upośledzenie czynności mięśni szkieletowych. Zaburzenia te mogą być nawet przyczyną zgonu.

Przeprowadzone przez lekarz Hanę Storoniak badanie podejmuje bardzo ważny temat, jakim jest ocena gospodarki witaminą B1 u chorych hemodializowanych. Podjęcie przez Doktorantkę analizy spożycia witaminy B1 przez chorych hemodializowanych, oceny stężenia pirofosforanu tiaminy (TPP) we krwi chorych hemodializowanych przed i po zabiegu hemodializy, poszukiwania czynników związanych z większą utratą witaminy TPP w czasie zabiegu HD jest celowe i cenne zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia. Mała liczba publikacji dotyczących spożycia witaminy B1 u chorych hemodializowanych, utraty tej witaminy w czasie zabiegów hemodializy oraz pojawienie się nowych metod oznaczania witaminy B1 w pełni uzasadniają podjęcie takiego tematu badawczego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska liczy 89 stron. Składa się ze wstępu, opisu celów pracy, rozdziałów „materiał i metody”, „wyniki”, „dyskusja”, wniosków, streszczenia oraz wykazu piśmiennictwa. Praca zawiera 20 tabel i 14 rycin. Na końcu rozprawy zawarty jest wykaz stosowanych w niej skrótów.

W liczącym 17 stron wstępie Autorka omawia okoliczności odkrycia i fizjologiczną rolę tiaminy, konsekwencje niedoboru tej witaminy, problem niedożywienia w przewlekłej chorobie nerek, występowanie chorób układu sercowo-naczyniowego w PChN oraz potencjalną rolę niedoboru witaminy B1 w rozwoju tych chorób, a także epidemiologię PChN. Rozdział ten wprowadza czytelnika w tematykę, której dotyczy rozprawa doktorska, a treść rozdziału stanowi uzasadnienie do podjęcia przez doktorantkę tematu badawczego oraz sformułowania celów pracy.

W rozdziale „Cele pracy” doktorantka przedstawia 6 celów. Cele te są zasadne i korespondują z tytułem pracy. Cele 1-4 są sformułowane prawidłowo. Cel 5 „próba odpowiedzi na pytanie, czy niedobór witaminy B1 przyczynia się do niewydolności serca u chorych hemodializowanych” również jest zasadny, jednak - jak pokazuje lektura dalszej części pracy - narzędzia zastosowane do weryfikacji tej hipotezy są, moim zdaniem, niewystarczające. W celu nr 6 zwrot „próba opracowania metody z

zastosowaniem detekcji fluorescencyjnej o wyższej czułości niż dostępny komercyjnie zestaw HPLC do rutynowego oznaczania witaminy B1” powinno brzmieć raczej „próba weryfikacji metody...” lub „porównanie wyników oznaczenia metabolitów witaminy B1 wykonanych różnymi metodami” ponieważ Autorka nie opracowuje nowej metody, ale wykorzystuje metodę opracowaną przez kogoś innego.

Na początku rozdziału „Materiał i metody” Autorka podaje, że na prowadzenie badania uzyskała zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym oraz że każdy z badanych otrzymał informację o badaniu i podpisał formularz świadomej zgody na udział w badaniu. Uważam, że jest dobrą praktyką dołączanie kopii zgody Komisji Bioetycznej do rozprawy doktorskiej.

W rozdziale „Materiał i metody” przedstawiona została badana populacja, na którą składa się grupa 50 chorych hemodializowanych oraz grupa kontrolna 10 zdrowych ochotników. Opisane są kryteria włączenia do grupy badanej. W rozdziale tym znajduje się szczegółowa charakterystyka badanej populacji. Dodatkowo grupa badana chorych HD została podzielona w zależności od rodzaju stosowanego dializatora na grupę, u której stosowano dializatory niskoprzepływowe (low-flux) i grupę chorych, u których stosowano dializatory wysokoprzepływowe (high-flux). W charakterystyce badanej populacji zwraca uwagę dysproporcja wieku między grupą badaną chorych HD i grupą kontrolną – średnia wieku w grupie badanej to 57,7 lat, zaś w grupie kontrolnej 35 lat.

W rozdziale tym znajduje się także nieścisłość dotycząca czasu trwania zabiegów hemodializy. Na stronie 27 czytamy, że „Zabiegi hemodializy wykonywano standardowo trzy razy w tygodniu po cztery godziny”, zaś w tabeli 12 na stronie 29 napisano, że „liczba godzin HD na tydzień wynosiła 12,8 ± 1,4; wartość minimalna 10,5 godziny; wartość maksymalna 15 godzin”.

W rozdziale „Materiał i Metody” przedstawiono metodę analizy spożycia witaminy B1 w pokarmach oraz szczegółowo opisano sposób oznaczania stężenia witaminy B1 z wykorzystaniem następujących metod:

1. Testu komercyjnego do oznaczania witaminy B1 metodą HPLC,
2. „Ulepszonej wersji komercyjnie dostępnego zestawu opracowanego przed Profesora Krzywińskiego z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego: izokratycznej wysokosprawnej chromatografii cieczowej z układem faz odwróconych (RP-HPLC) z detekcją fluorescencyjną” oraz
3. Metodą spektrofotometrii, która pozwala na oznaczenie stężenia tiaminy i jej estrów fosforanowych.

W rozdziale 5 przedstawiono uzyskane wyniki. Zastosowanie w tym rozdziale tabel i wykresów ułatwia zapoznanie się z uzyskanymi przez Doktorantkę wynikami badań. Najważniejsze z nich to, zdaniem recenzenta, wykazanie, że spożycie witaminy B1 jest niższe od zalecanego (1,1

mg/dobę) u 72% badanych chorych HD, wykazanie istotnie statystycznie niższego stężenia TPP w grupie chorych HD zarówno przed HD jak i po HD w porównaniu z grupą kontrolną. Kolejne niezwykle ważne i ciekawe wyniki to wykazanie istotnego statystycznie obniżenia stężenia TPP w trakcie zabiegu hemodializy średnio o 43,9% ( $p < 0,001$ ) z bardzo dużymi różnicami osobniczymi (spadek od 3,3% do 99,8%). Z opisów znajdujących się w tym rozdziale Rycin numer 4 - 9 nie wynika jednak jednoznacznie, której metody oznaczania stężenia TPP dotyczą wyniki przedstawione na tych rycinach. Niezwykle ciekawa jest wykazana w pracy ujemna korelacja między masą ciała a spadkiem stężenia TPP w czasie zabiegu HD. Oznaczać to może, że chorzy hemodializowani z niską masą ciała są szczególnie narażeni na niedobór witaminy B1.

Uważam, że warto by wzbogacić ten rozdział o następujące porównania i analizy:

1. Porównanie stężenia TPP między chorymi HD stosującymi i nie stosującymi suplementacji witaminy B1
2. Porównanie stężenia TPP i spadku stężenia TPP w czasie HD między kobietami i mężczyznami
3. Porównaniu TPP u chorych, którzy przebyli zawał serca, z chorymi bez zawału serca w wywiadzie
4. Porównaniu stężenia TPP i spadku stężenia TPP w czasie hemodializy między chorymi dializowanymi z użyciem dializatorów low-flux i high-flux.
5. Analizy korelacji między spożyciem tiaminy, a jej stężeniem we krwi pacjentów hemodializowanych przed dializą i po dializie
6. Porównaniu wyników oznaczeń witaminy B1 uzyskanych różnymi metodami – porównanie średnich, analiza korelacji wyników uzyskanych różnymi metodami oraz analiza zgodności między wynikami uzyskanymi różnymi metodami.

W rozdziale „Materiał i metody”, na stronie 35 podano, że wykonano także oznaczenia stężenia natriuretycznego czynnika typu B (BNP) oraz troponiny I (TnI), natomiast w rozdziale „Wyniki” nie przedstawiono wyników tych oznaczeń.

W liczącej 10 stron dyskusji Autorka omawia uzyskane wyniki badań w odniesieniu do dotychczasowego stanu wiedzy. Dyskusja jest skoncentrowana na określonych wcześniej celach pracy i prowadzona logicznie. Chciałbym jednak zwrócić uwagę na zbyt uproszczone, moim zdaniem, wnioskowanie o związku między witaminą B1 a niewydolnością serca na podstawie wyników uzyskanych w pracy. Daną kliniczną analizowaną w pracy był przebyty zawał serca. Nie analizowano objawów niewydolności serca, ani wyniku badania echokardiograficznego. Nie każdy zawał serca (a zwłaszcza zawał serca NSTEMI – a te najczęściej występują u chorych hemodializowanych) prowadzi do niewydolności serca. Nie każda niewydolność serca u chorego hemodializowanego wynika z

przebytego zawału serca. Poza tym w przypadku badania przekrojowego trudno wnioskować o zależności przyczynowo-skutkowej.

Pracę doktorską podsumowuje 5 wniosków. Wnioski 1-3 są trafne, dobrze sformułowane i korespondują z celami pracy przedstawionymi na stronie 25.

Fragment wniosku nr 4, mówiący o tym, że „przewlekła, długoterminowa utrata TPP zależy od ... współistnienia niewydolności serca” nie znajduje, moim zdaniem, potwierdzenia w wynikach pracy.

Wniosek nr 5 „RP-HPLC/FL oraz spektrofluorymetria są wartościowymi, dotąd niestosowanymi metodami do oznaczania witaminy B1” nie wynika jednoznacznie z zaprezentowanych w pracy wyników i powinien być inaczej zredagowany lub poparty odpowiednimi analizami.

Praca zawiera także streszczenie w języku polskim oraz angielskim oraz wykaz piśmiennictwa. Piśmiennictwo jest uporządkowane zgodnie z kolejnością cytowania w tekście pracy. Wykaz piśmiennictwa liczy 66 pozycji. Ta część pracy wymaga jednak uporządkowania, ponieważ 3 publikacje są cytowane dwukrotnie:

1. Fouque i wsp (Nephrol Dial Transplant 2007 rok) pod numerem 20 i 26
2. Coveney i wsp (Hemodial Int 2011 rok) pod numerem 53 i 66
3. Descombes i wsp (Artificial Organs 2000 rok) pod numerem 58 i 65

Z obowiązku recenzenta chciałbym wskazać na pewne nieścisłości nomenklaturowe, które pojawiły się w pracy. W tytule tabeli 2 na stronie 13 napisano „Zalecenia dotyczące suplementacji witamin, minerałów i pierwiastków śladowych wg EBPG”, podczas gdy w oryginale pracy jest mowa o „Recommended dietary intake...” czyli „zalecanym spożyciu”. Jest to o tyle istotne, że w tabeli podane są zalecenia dotyczące, między innymi, spożycia sodu, fosforu, czy potasu – a więc chodzi o zalecane spożycie, a nie o suplementację tych pierwiastków u chorych hemodializowanych. Niefortunnie jest także użyte w tej tabeli słowo „wapno” zamiast „wapń”.

Na stronie 18 Autorka używa określenia „długość” końcowo-rozkurczowa i skurczowa lewej komory. W nomenklaturze echokardiograficznej używa się określenia „średnica” końcowo-rozkurczowa i końcowo-skurczowa lewej komory, ponieważ pomiar dotyczy wymiaru poprzecznego, a nie podłużnego lewej komory. Na tej samej stronie tekst odsyła czytelnika do Tabeli 1, a powinien do Tabeli 4.

Na stronie 20 znajdujemy nieprecyzyjne sformułowanie, że „Roczna zapadalność na schyłkową niewydolność nerek (5-6%) obecnie znacznie przekracza przyrost naturalny (1,1%)”. Jak podano w Tabeli 5 na tej samej stronie rzeczywiście chodzi o „roczne tempo wzrostu zapadalności na schyłkową niewydolność nerek”, które wynosi 5-6%. W dyskusji na stronie 55 Autorka używa

sformułowania, że „przewlekła utrata TPP jest ... odwrotnie proporcjonalna do płci” i że zastosowana w pracy metoda statystyczna „analizy głównych składowych” nie pozwala na identyfikację płci, która wpływa na stężenie TPP. Być może proste porównanie stężenia TPP oraz spadku stężenia TPP w czasie HD między kobietami i mężczyznami pozwoliłoby wyjaśnić tę wątpliwość. W tabeli 12 na stronie 29 stężenie albuminy jest wyrażone w mg/l, a powinno być w g/l.

Na koniec kilka uwag edytorskich. Uważam za celowe objaśnianie skrótów, gdy po raz pierwszy pojawiają się w tekście, zwłaszcza, gdy dotyczą skrótów rzadko używanych („HPLC” strona 10) lub nieoczywistych („MLR” strona 63). To znacznie ułatwia lekturę każdej publikacji. W tabeli 11 na stronie 28 w części dotyczącej klirensów mocznika, kreatyniny, fosforu i witaminy B12 (kolumna 1) wartości liczbowe klirensów tych substancji dla dializatorów low-flux (kolumna 2) i high-flux (kolumna 3) są umieszczone 2 wiersze niżej w stosunku do nazwy substancji. Prezentując wyniki spożycia tiaminy u poszczególnych pacjentów hemodializowanych w formie wykresu (Rycina 1) Autorka zastosowała wykres liniowy, a lepszy w tym przypadku byłby wykres punktowy lub słupkowy.

Opisane powyżej uwagi nie podważają merytorycznej wartości rozprawy doktorskiej, a mają na celu jedynie jak najlepsze przygotowanie uzyskanych przez Autorkę wyników do publikacji, na co wyniki te niewątpliwie zasługują.

Przedstawiona do oceny praca doktorska stanowi logiczną całość, jej poszczególne części wiążą się ze sobą i są uporządkowane. Praca ta ma istotne znaczenie poznawcze i praktyczne. Dostarcza ona ważnych, nowych informacji dotyczących patofizjologii gospodarki witaminą B1 u chorych hemodializowanych. Dokumentuje istotny wpływ zabiegu hemodializy na spadek stężenia witaminy B1 we krwi pacjentów hemodializowanych.

Podsumowując pragnę stwierdzić, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lekarz Hanny Storoniak „Gospodarka witaminą B1 u chorych hemodializowanych” ma wysoką wartość naukową i odpowiada warunkom określonym w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003.65.595 w późniejszych zmianami). Dlatego wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lekarz Hanny Storoniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med. Paweł Stróżecki  
specjalista chorób wewnętrznych,  
nefrologii i hipertensjologii  
9626083