

*Recenzja Pracy doktorskiej Pani Beaty Marczak Karpiny  
zatytuowanej -*

**"Przydatność oznaczania makroenzymów metodą precypitacji  
w PEG w diagnostyce laboratoryjnej."**

Makroenzymy to kompleksy o wysokiej masie cząsteczkowej, powstającej w wyniku polimeryzacji( normalnych) enzymów z immunoglobulinami lub innymi cząsteczkami, takimi jak glikoproteidy , lipoproteidy, inne różne białka, (fragmenty błon komórkowych),a nawet leki. Makroenzymy "żyją" bardzo długo w układzie krążenia, można je wykryć w surowicy krwi w warunkach fizjologicznych i patofizjologicznych (m.in. w chorobie nowotworowej, chorobach autoimmunologicznych i innych) .Często są przyczyną podwyższonych wartości wykonywanych oznaczeń i mogą powodować diagnostyczne błędy! Niedocenianie możliwości występowania i wpływu makroenzymów na wykonywane badania prowadzi( może prowadzić) do konieczności ich powtarzania i znacznego zwiększenia kosztów wykonywanych badań!

Zdaniem Autorki recenzowanej pracy -istnieje wiele metod diagnostycznych, pozwalających na potwierdzenie obecności makrokompleksów w surowicy krwi, niektóre z nich są bardzo skomplikowane, pracochłonne , wymagają też drogiej aparatury.

Do badań Autorka pracy wybiera metodę precypitacji w glikolu

polietylenowym (PEG), zmodyfikowaną przez Lawsona, opublikowaną w roku 2001 w Ann Clin Biochem.

**Celem pracy była ocena przydatności oznaczania makroenzymów w sytuacji podwyższonej aktywności enzymów osocza, przy braku objawów klinicznych, charakterystycznych dla tego wzrostu. Możliwość wyjaśnienia przyczyn wzrostu aktywności enzymów osocza może ułatwić rezygnację z wykonywania kosztownych inwazyjnych badań endoskopowych i histopatologicznych.** Wykonanie testu z wykorzystaniem glikolu polietylenowego jest niebolesne i nieinwazyjne. Autorka analizuje zależności pomiędzy obecnością makroenzymów w surowicy krwi, wiekiem badanych pacjentów, parametrem BMI (ang.-Body Mass Index-wskaznik masy ciała) oraz gospodarką lipidową. Podejmuje też próbę ustalenia związku pomiędzy obecnością makroenzymów w surowicy krwi i chorobami przewlekłymi oraz autoimmunologicznymi.

Badaniami objęto 121 pacjentów, u których stwierdzono podwyższone wartości aktywności enzymów wątrobowych lub trzustkowych. Zbadano 75 kobiet i 47 mężczyzn (najmłodszy pacjent miał 17 lat, najstarszy 80 lat, średnia wieku 42,7 lat). W badaniach uczestniczyli pacjenci, u których stwierdzono podwyższone aktywności następujących enzymów: alfa -amylazy, gamma-glutamylotranspeptydazy (GGTP), kinazy kreatynowej (CK), aminotransferazy alaninowej (ALT/GPT), aminotransferazy



asparaginianowej(AST/GOT/) i fosfatazy alkalicznej(ALP).

W diagnostyce Autorka zastosowała testy do oznaczania aktywności enzymów i badania obecności makroenzymów w surowicy. Wykorzystała metody kolorymetryczne i spektrofotometryczne. Makroenzymy zbadała metodą precypitacji w glikolu polietylenowym, podając wyniki w procentach precypitacji (PPA).

Recenzowana praca jest zaprezentowana w sposób typowy dla prac doświadczalnych. Zawiera Wstęp teoretyczny, Cel, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusję, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Spis pozycji literaturowych, Wykaz tabel, Wykaz rycin, Wykaz używanych skrótów i symboli.

Wstęp zawiera krótkie wprowadzenie dotyczące pojęcia "makroenzymów" ich charakterystyki i potencjalnej roli jako markerów diagnostycznych. Autorka podsumowuje najważniejsze dane(informacje) o enzymach, związanych z immunoglobulinami i innymi komponentami surowicy. Patogeneza tworzenia makrokompleksów jest nieznana. Obecność przeciwciał w badanych kompleksach wskazuje na autoimmunologiczny mechanizm ich powstawania. Brak jest doniesień na temat predyspozycji do tworzenia makrokompleksów, nie wykrywa się ich obecności wśród rodzin pacjentów.

Szczegółowe wyniki ( dane liczbowe) uzyskane w badaniach, zaprezentowane w pracy zebrano w 26 tabelkach i 7 rycinach.

Analizy dotyczyły m.in. obecności makroenzymów w zależności od wieku i płci pacjentów, relacji obecności makroenzymów z e wskaźnikiem masy ciała(BMI), analizą statystyczną BMI u badanych pacjentów( z porównywaniem danych dla kobiet i mężczyzn), relacji wskaźnika masy ciała kobiet i mężczyzn z poziomem różnych makroenzymów. Przeprowadzono też analizę zależności poszczególnych makroenzymów od wieku, wzrostu, masy ciała i BMI. Niezwykle cennym wynikiem jest wykazanie istotnie statystycznej korelacji między obecnością makroamylazy w surowicy krwi a masą ciała.

Podsumowując- celem pracy była ocena przydatności oznaczania makroenzymów w sytuacji podwyższonej aktywności, wymienionych wcześniej, wybranych enzymów osocza- przy braku określonych klinicznych objawów. Przydatność oznaczania makroenzymów metodą precypitacji w glikolu polietylenowym (PEG)- pozwala w wielu przypadkach na uniknięcie kosztownych badań diagnostycznych. Metodę cechuje wysoka czułość i swoistość-może być wykorzystywana do rutynowej diagnostyki laboratoryjnej przy możliwości obecności makroenzymów u badanych pacjentów. Doktorantka wykonała też badanie zależności pomiędzy profilami lipidowym i płcią u pacjentów z makroenzymami obecnymi we krwi ,takimi jak makroamylaza, makro-GGTP , makro CK. Skupiła też uwagę na relacji pomiędzy obecnością makroenzymów



a chorobami przewlekłymi. Występowanie makroenzymów w surowicy w grupie osób zdrowych okazało się statystycznie mniejsze niż w grupie chorych.

Na uwagę zasługuje obszerna Dyskusja w której Doktorantka podkreśla wartość metody precypitacji przy użyciu PEG ,cechującej się wysoką czułością i swoistością, i może być wykorzystywana do rutynowej diagnostyki laboratoryjnej przy podejrzeniu obecności makroenzymów.

Wnioski sformułowane w sposób prawidłowy, zgodny z uzyskanymi wynikami. Badania jednoznacznie potwierdzają kliniczne znaczenie makroenzymów.

Recenzowana praca zwróciła uwagę na zjawiska, o których " nie rozmawiamy na codzień"! Pozostaje bardzo ważne pytanie-czy istnieją odpowiednie, realne warunki do powtarzania badań i prawidłowego diagnozowania?

Krytyczne uwagi Recenzenta dotyczą braku konsekwencji w sposobie cytowania literatury, umieszczonej w Rozdziale IX tekstu pracy. Rozdział IX zawiera spis 118 publikacji w tym 30 prac opublikowanych w ostatnich 10 latach . Ciekawa interesująca tematyka pracy Doktorantki skłaniała często Recenzenta do kontaktu z tytułami cytowanych prac i nazwisk ich Autorów. Proces ten był utrudniony z powodu braku alfabetycznego spisu literatury.

Nieprawidłowo cytowano w tekście pracy wielokrotnie tylko nazwisko pierwszego Autora- bez zaznaczenia skrótem- istniejących współpracowników , zwykle stosowanym skrótem ( i wsp.).

Wystarczyłyby również zastosowane odnośniki liczbowe.

Podsumowując -cel pracy został prawidłowo realizowany - potwierdzając przydatność oznaczania makroenzymów w sytuacji podwyższonej aktywności enzymów osocza- przy braku wyraźnych objawów klinicznych . Tematyka badawcza podjęta przez doktorantkę prezentuje bardzo istotne znaczenie diagnostyczne! Musimy być jednak świadomi relacji różnorodności osobniczej i zróżnicowanych warunków środowiskowych , związanych z omawianymi badaniami.

Zaprezentowana, recenzowana praca spełnia całkowicie kryteria stawiane rozprawom doktorskim. Praca zasługuje na wysoką ocenę. Uprzejmie proszę Wysoką Radę Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie Doktorantki -Pani mgr Beaty Marczak-Karpiny do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z uwagi na bogaty zbiór zebranych i zaprezentowanych informacji wnioskuję też o wyróżnienie pracy.

prof.dr hab.

Maria Malicka-Błaszkiwicz

Wydział Biotechnologii

Uniwersytet Wrocławski

( profesor emerytowany)

Wrocław 20 września 2015

*Maria Malicka  
Błaszkiwicz*