

Katowice, 10.08.2023 r.

Prof. dr hab. n. med. Łukasz J. KRZYCH
Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Oddział Anestezjologii i Intensywnej Terapii
Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrze

***Recenzja pracy doktorskiej Pani lek. Magdaleny KOPYTEK
pt. „Czynniki modulujące progresję stenozy aortalnej – związki z zapaleniem, aktywacją układu
krzepnięcia/fibrynolizy i kalcyfikacją”
„Factors modulating the progression of aortic stenosis - association with inflammation,
activation of the coagulation/fibrinolysis system and calcification”***

Stenoza aortalna (AS) jest najczęstszą nabytą wadą zastawkową serca występującą u mieszkańców krajów rozwiniętych a jej rozpowszechnienie koreluje dodatnio z wiekiem, co bezpośrednio koresponduje z faktem, że choroba ta ma wymiar niemalże społeczny w populacji krajów Ameryki Północnej czy Europy. Istotne klinicznie upośledzenie pracy zastawki aortalnej jest wskazaniem do jej leczenia zabiegowego, metodą chirurgiczną (AVR) lub przezskórną (BAV lub TAVI). Im starszy pacjent, im bardziej obciążony chorobami dodatkowymi, tym wybór postępowania jest trudniejszy z uwagi na ryzyko niepowodzenia procedury. Ocena ryzyka zabiegu jest każdorazowo brana pod uwagę przy kwalifikacji pacjenta.

Patofizjologia tej wady jest złożona i wciąż prowadzone są wnikliwe badania (eksperymentalne, kliniczne i populacyjne), których celem jest jej dokładne poznanie. Może to mieć bezpośrednie przełożenie praktyczne na wprowadzenie w przyszłości farmakologicznych metod zapobiegających jej rozwojowi, a u osób, u których jest już obecna – spowolnienie progresji choroby. Czasem musi być brany pod uwagę wpływ czynników modulujących przebieg choroby, w tym współchorobowość (np. obecność choroby niedokrwiennej serca, otyłości, cukrzycy), czy możliwość wystąpienia powikłań, w tym z grupy tych zakrzepowo-zatorowych (w szczególności udaru mózgu). W tym kontekście badania podjęte przez Doktorantkę wpisują się doskonale w problem opisany powyżej i są przejawem biegłości w literaturze przedmiotu. Pomysł pracy i założenia badawcze projektu lek. Magdaleny KOPYTEK oceniam bardzo wysoko. Praca ma ciekawą koncepcję, hipotezy badawcze są spójne i zrozumiałe z merytorycznego i poznawczego punktu widzenia.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska ma postać typową dla podsumowania cyklu monotematycznych artykułów, na kanwie których powstała. Powstała pod opieką Pani Profesor Joanny

NATORSKIEJ, która jest niekwestionowanym ekspertem w dziedzinie badań nad zaburzeniami układu krzepnięcia i fibrylizacji, była zrealizowana w jednej z najlepszych Jednostek badawczych w kraju.

Praca doktorska Pani lek. Magdaleny KOPYTEK oparta jest na kanwie pięciu artykułów (czterech oryginalnych i jednego poglądowego), które ukazały się w czasopiśmie naukowych ze współczynnikiem oddziaływania (*impact factor, IF*).

1. Kopytek M, Ząbczyk M, Mazur P, Undas A, Natorska J. *Accumulation of advanced glycation end products (AGEs) is associated with the severity of aortic stenosis in patients with concomitant type 2 diabetes*. Cardiovasc Diabetol. 2020; 19: 92.
2. Kopytek M, Mazur P, Ząbczyk M, Undas A, Natorska J. *Diabetes concomitant to aortic stenosis is associated with increased expression of NF- κ B and more pronounced valve calcification*. Diabetologia. 2021; 64: 2562-2574.
3. Kopytek M, Ząbczyk M, Mazur P, Siudut J, Natorska J. *Oxidized phospholipids associated with lipoprotein(a) contribute to hypofibrinolysis in severe aortic stenosis*. Pol Arch Intern Med. 2022; 132: 16372.
4. Kopytek M, Ząbczyk M, Mazur P, Undas A, Natorska J. *PAI-1 Overexpression in Valvular Interstitial Cells Contributes to Hypofibrinolysis in Aortic Stenosis*. Cells. 2023; 12: 1402.
5. Natorska J, Kopytek M, Undas A. *Aortic valvular stenosis: Novel therapeutic strategies*. Eur J Clin Invest. 2021; 51: e13527.

Łączny IF tych prac wynosi 33,8 (update 2023). Łączna punktacja MEiN wynosi 720 (update 2023). W każdej pracy oryginalnej Doktorantka jest pierwszym autorem, a w pracy poglądowej- drugim. Wkład Doktorantki jest zatem niekwestionowany i znaczący. Z oświadczeń współautorów prac wynika, że Doktorantka była odpowiedzialna za: wykonywanie części eksperymentalnej, pozyskanie, analizę i interpretację danych, sporządzanie i poprawę manuskryptu (wszystkie pięć prac) oraz opracowaniu koncepcji badania (trzecia i czwarta praca).

Zawsze podkreślam, że recenzując doktorat oparty o cykl już opublikowanych artykułów mam świadomość, iż moje zadanie jest jedynie doradcze, wszak prace te zostały już kompleksowo ocenione przez grono międzynarodowych autorytetów, co warto mieć na uwadze dokonując podsumowania pracy Doktorantki.

Praca jest czytelna, starannie wykonana i dopracowana edycyjnie. Jest napisana poprawną polszczyzną i zrozumiałym językiem. Czyta się ją z przyjemnością. Spostrzegłem jedynie pojedyncze błędy literowe i interpunkcyjne.

We „Wprowadzeniu” Doktorantka w sposób zwięzły raportuje aktualną ogólną wiedzę teoretyczną na temat, który stał się podstawą do przygotowania rozprawy. Dużo większy wgląd w znajomość Autorki

w problematykę modulowania progresji AS u pacjentów z cukrzycą daje analiza pełnych tekstów artykułów anglojęzycznych.

Kolejny rozdział to „Cele”. Nadrzędnym celem rozprawy było zbadanie mechanizmów związanych z działaniem czynników modulujących progresję AS, tj. hiperglikemii i nasilonego stresu oksydacyjnego ze szczególnym uwzględnieniem ich potencjalnych związków z zapaleniem, aktywacją układu krzepnięcia, hipofibrylizacją i kalcyfikacją u pacjentów z ciężką AS. W tym rozdziale Autorka przedstawia także cztery oryginalne hipotezy badawcze:

Hipoteza 1: Zwiększona akumulacja końcowych produktów zaawansowanej glikacji u pacjentów z AS i współistniejącą cukrzycą typu 2 (DMT2) jest związana ze zwiększoną produkcją reaktywnych form tlenu i wapnieniem zastawki. Hipotezę tę weryfikowano w pracy nr 1.

Hipoteza 2: Cukrzyca t.2 współistniejąca z AS wiąże się ze zwiększoną ekspresją NF-κB, aktywacją układu krzepnięcia *in loco* oraz nasilonym wapnieniem zastawki. Hipotezę tę weryfikowano w pracy nr 2.

Hipoteza 3: Podwyższony poziom utlenionych fosfolipidów w surowicy krwi jest nowym czynnikiem determinującym hipofibrylizację u pacjentów z ciężką AS. Hipotezę tę weryfikowano w pracy nr 3.

Hipoteza 4: U pacjentów z ciężką AS akumulacja lipidów w obrębie stenotycznych zastawek prowadzi do nadekspresji inhibitora aktywatora plazminogenu 1, co przyczynia się do hipofibrylizacji. Hipotezę tę weryfikowano w pracy nr 4.

Cel pracy jest sformułowany jasno a przytoczone hipotezy prawidłowe.

W kolejnych dwóch rozdziałach („Pacjenci” i „Metody”) opisana jest skrótowo metodyka badania. Pełny opis „Materiału i metod” dostępny jest w tekstach manuskryptów. Co ważne, Autorka informuje, iż projekt uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej a protokół badania był zgodny z wytycznymi Deklaracji Helsińskiej wraz z jej późniejszymi poprawkami. Następnie Doktorantka dokonuje zwięzłego podsumowania „Wyników” pracy doktorskiej oraz przedstawia krótką ich „Dyskusję”, w której odnosi swoje wyniki do wyników innych badaczy, komentuje ich zgodność i rozbieżności oraz potencjalne znaczenie naukowe.

Przeprowadzone badania pozwoliły lek. Magdalenie KOPYTEK na sformułowanie następujących wniosków:

1. Źle kontrolowana cukrzyca t.2 prowadzi do akumulacji AGEs w zastawkach aortalnych, przez co nasila lokalny stres oksydacyjny i zapalenie, co w konsekwencji może prowadzić do szybszej progresji AS.
2. Współistniejąca D cukrzyca t.2 u pacjentów z AS nasila lokalny stan zapalny, aktywację układu krzepnięcia oraz syntezę mediatorów wapnienia zastawki poprzez nasiloną aktywację *in loco* szlaku NF-κB.

3. U pacjentów z AS i współistniejącą cukrzycą t.2 utrzymywanie HbA_{1c} i fruktozaminy w zakresie norm referencyjnych może spowolnić tempo progresji AS.
4. U pacjentów z ciężką AS i stężeniem Lp(a) ≥ 50 mg/dl obserwuje się podwyższone poziomy OxPL, które mają silniejszy wpływ na hipofibrylizację niż Lp(a).
5. U pacjentów z ciężką AS akumulacja lipidów prowadzi do nadekspresji PAI-1, wynikającej z nadmiernej aktywacji szlaku NF- κ B w zastawkach aortalnych, co przyczynia się do hipofibrylizacji.

Wnioski są zbieżne z uprzednio przedstawionymi hipotezami. Doktorantka wzorcowo zrealizowała przyjęte zadania badawcze, co potwierdza Jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Jestem pod wrażeniem dojrzałości naukowej Doktorantki i Jej dbałości o przejrzystość naukową po lekturze dwóch ostatnich rozdziałów rozprawy, tj. „Ograniczeń” i „Perspektyw”. To bardzo wartościowy tekst, w którym Autorka rzeczowo komentuje swe spostrzeżenia dotyczące roli hiperglikemii i nasilonego stresu oksydacyjnego ze szczególnym uwzględnieniem ich potencjalnych związków z zapaleniem, aktywacją układu krzepnięcia, hipofibrylizacją i kalcyfikacją u pacjentów z ciężką, poddawaną leczeniu chirurgicznemu AS.

Dodatkowymi elementami pracy są: wykaz zastosowanych skrótów, streszczenia polsko- i angiellojęzyczne, piśmiennictwo oraz pełne teksty opublikowanych prac i oświadczenia współautorów.


Po lekturze pracy pojawia się kilka pytań, na które proszę Doktorantkę o odpowiedzi:

1. W każdej pracy jest inna liczebność grupy badanej – z czego to wynika? Na ile spójne są grupy pacjentów z AS w poszczególnych badaniach?
2. W pracy nr 1 badani z DMT2 różnili się znamienne od osób bez cukrzycy pod względem występowania otyłości (wartości BMI). To poważny czynnik zakłócający. Czy badano zatem jego wpływ na modulację ekspresji ACEs i RAGE między osobami z i bez cukrzycy?
3. Czy znana jest Autorce częstość powikłań pooperacyjnych u osób z AS z i bez cukrzycy?
4. W pracy nr 4 grupę kontrolną stanowią obserwacje z badań autopsyjnych. Skąd wiadomo, że denaci nie chorowali przewlekłe na choroby układu krążenia? Jak rekrutowano grupę kontrolną?
5. W pracy nr 5 opisano potencjalną rolę działań farmakologicznych w spowolnieniu rozwoju AS. Czy prowadzone są badania nad rolą interwencji nefarmakologicznych, tj. diety, aktywności fizycznej?
6. Bazując na obserwacjach w pracy nr 5 – czy doniesienia o roli DOAC (NOAC) mogą zmienić praktykę w zakresie stosowania antykoagulacji po wymianie zastawki aortalnej? Jak zapatruje się na ten problem Doktorantka?

Podsumowując, mam przyjemność stwierdzić, iż przedstawiona mi do recenzji praca doktorska nosi wszelkie znamiona oryginalnego dzieła naukowego o znacznych walorach poznawczych. Swoją treścią dociera ona do międzynarodowego Czytelnika. Badania zostały starannie zaplanowane, zrealizowane i opisane. Przytoczone pytania mają charakter bardziej dyskusji z Doktorantką niż krytyki przeprowadzonych i zaraportowanych badań. Praca spełnia kryteria zawarte w tekście ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz.U. poz. 1789, z późn. zm.), uwzględniając zapisy Ustawy Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 3 lipca 2018 roku (Dz. U. poz 1669, z późn. zm.) oraz wyczerpuje rekomendacje Rady Dyscypliny Nauki medyczne UJ obowiązujące w postępowaniach o nadanie stopnia doktora.

Dlatego z pełnym przekonaniem rekomenduję Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie dopuszczenie lek. Magdalenę KOPYTEK do dalszych etapów procedury mającej na celu nadanie stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Z przyczyn przedstawionych powyżej, bazując na rekomendacjach Rady Dyscypliny obowiązujących w postępowaniach o nadanie stopnia doktora, wnioskuję także o wyróżnienie pracy.

Z poważaniem,


216 000 prof. dr hab. n. med. Andrzej Cichy
specjalista anestezjologii
i intensywnej terapii