

Dr hab. Agata Stanek
Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych,
Angiologii i Medycyny Fizykalnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze
ul. Batorego 15
41-902 Bytom

Bytom, 4.07.2018

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Aleksandry Turek-Jakubowskiej
pt. „Dynamiczna ocena wybranych aspektów patofizjologii
świeżego udaru niedokrwienego mózgu
ze szczególnym uwzględnieniem zmian proteomu osocza”.**

Podstawę opracowania recenzji przez mnie stanowi otrzymane pismo Dziekana Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu nr DK/N/1779/18 z dnia 12.06.2018 i przekazana rozprawa doktorska.

Choroby naczyń mózgowych są w Polsce drugą przyczyną zgonów i trwałej niepełnosprawności, zaraz po chorobie niedokrwiennej serca. Udar mózgu jest coraz częściej określany mianem "ostrego zespołu mózgowego". Podkreśla się analogię do ostrego zespołu wieńcowego. Jednakże w przeciwieństwie do ostrego zespołu wieńcowego nadal brakuje markerów ostrego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego znajdujących zastosowanie w praktyce klinicznej, które by były odpowiednio czułe i swoiste, ściśle korelowały z rozległością ogniska niedokrwienego, pokazywały dynamikę zmian w czasie oraz pozwalały rozpoznać powtarzający się incydent niedokrwienia wcześniej niż badania obrazowe. Dodatkowym problemem jest brak efektywnych leków pozwalających nie tylko na zahamowanie postępu choroby, ale również na odwrócenie jej skutków, zarówno u pacjentów z ostrym udarem niedokrwienym mózgu, jak i przewlekłą chorobą naczyniową mózgu. Stąd wybór tematu pracy Doktorantki uważam za aktualny i uzasadniony. Problem będący podstawą rozprawy doktorskiej jest ważny i interesujący zarówno z praktycznego, jak i klinicznego punktu widzenia.

Praca napisana jest poprawnie pod względem formalno - językowym, stylistycznym i interpunkcji. Zawiera ona typowe rozdziały charakterystyczne dla pracy doktorskiej. Składa się ze wstępu, szczegółowego określenia celu pracy, części omawiającej materiał i metody badania, wyników, dyskusji oraz wniosków, streszczenia w języku polskim, angielskim i przeglądu bibliografii oraz spisu tabel i rycin. Proporcje na poszczególne rozdziały zostały należycie wyważone.

We „Wstępie” Doktorantka wyczerpująco przedstawiła aktualny stan wiedzy o udarze niedokrwiennym mózgu, w tym ograniczenia obecnie stosowanych metod diagnostyczno-terapeutycznych, definicję i podstawy molekularne analizy proteomicznej, zastosowane jej w diagnostyce incydentów niedokrwiennych w OUN oraz rolę dysfunkcji śródbłónka naczyniowego w chorobach układu sercowo-naczyniowego.

Celem rozprawy doktorskiej była identyfikacja białek – potencjalnych kandydatów na biomarkery ostrego niedokrwienia mózgu, przez analizę różnic proteomu i peptydomu osocza pomiędzy grupą badaną, a kontrolną, jak również dynamiczna ocena zmian tych parametrów w obrębie grupy osób z udarem niedokrwiennym mózgu w szeregach czasowych. Uzupełniając Doktorantka przeprowadziła analizę czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych oraz fenotypu funkcji śródbłónka w grupie badanej i grupie kontrolnej. W oparciu o uzyskany materiał, dokonała powiązania faktu wystąpienia udaru z oszacowanym ryzykiem sercowo-naczyniowym (za pomocą konwencjonalnych markerów biochemicznych), jak również z funkcją śródbłónka ocenioną na podstawie badań czynnościowych z użyciem laserowego przepływomierza dopplerowskiego (LDF) – badanie zmian przepływu w mikrokrążeniu w odpowiedzi na bodziec termiczny oraz oceniła markery funkcji śródbłónka w aspekcie reakcji zapalnej, funkcji przeciwzakrzepowej i angiogennej.

Rozdział „Materiał i metody” zawiera wszelkie konieczne informacje niezbędne dla zorientowania się w sposobie przeprowadzania badania. Doktorantka zastosowała odpowiednie i nowoczesne metody diagnostyczne gwarantujące rzetelność uzyskanych wyników.

Do badania Doktorantka włączyła 61 osób – 32 pacjentów między 29, a 80 rokiem życia, z rozpoznany świeżym udarem niedokrwiennym mózgu (hospitalizowanych z tego powodu w Klinice Neurologii 4. Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką we Wrocławiu) oraz 29 ochotników (hospitalizowanych

w Klinice Chorób Wewnętrznych tego samego szpitala w trybie planowym), którzy stanowili grupę kontrolną, dobraną pod względem charakterystyki demograficznej do uzyskanej grupy badanej. Od każdego pacjenta grupy badanej materiał biologiczny pobierany był dwukrotnie: w pierwszej (grupa A) oraz siódmej dobie (grupa B) hospitalizacji; od osób stanowiących grupę kontrolną jednokrotnie – pierwszego dnia podczas uzyskania zgody na udział w projekcie (grupa C). We wszystkich grupach wykonano stratyfikację ryzyka sercowo-naczyniowego za pomocą konwencjonalnych markerów biochemicznych, zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC, ang. European Society of Cardiology z 2016 roku), nieinwazyjnego badania funkcji śródbłonka naczyniowego metodą laser doppler oraz analizę różnic proteomu i peptydomu osocza pomiędzy grupą kontrolną, a grupami badanymi.

Uzyskane wyniki poddane zostały właściwie dobranej i przeprowadzonej analizie statystycznej. Wyniki badań Autorka przedstawiła na 5 wykresach oraz w 9 tabelach. Dzięki przedstawieniu wyników w postaci czytelnych i precyzyjnie opisanych rycin i tabel, które dokładnie zostały omówione w tekście, praca jest przejrzysta i umożliwia pełną interpretację uzyskanych rezultatów.

Uzyskane przez Doktoranta wyniki są interesujące i ważne, zarówno ze względów poznawczych, jak i dla praktyki klinicznej. Autorka zidentyfikowała dziesięć białek, których stężenia w osoczu istotnie różniły się między grupą badaną, a grupą kontrolną: składowa B dopełniacza, apolipoproteina A-I, fibronektyna, fetuina A, alfa-1B-glikoproteina, białko szoku cieplnego rodziny Hsp70, fosforylaza tymidynowa, syntetaza tryptofanylo-tRNA, fikolina-2, dipeptydaza beta-alanylohistydynowa. Ponadto Doktorantka, że udarowi niedokrwiennemu towarzyszy istotna dysfunkcja śródbłonka naczyniowego zależna przede wszystkim od podwyższonego stężenia asymetrycznej dimetyloargininy oraz niedoboru kwasu foliowego.

Z obowiązku recenzenta podaję również moje uwagi krytyczne, które nie wpływają na wysoką wartość pracy:

- Str 35-grupa kontrolna powinna zostać bardziej szczegółowo scharakteryzowana, czy u tych chorych występowała choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie i inne choroby, które mogły wpływać na dysfunkcję śródbłonka

- str 79 „W niniejszym badaniu w grupie badanej obserwowano również wyjściowo wyższe wartości MDA w porównaniu z grupą kontrolną, ale nie była to różnica istotna statystycznie” - jeśli coś nie jest istotne statystycznie to nie można pisać, że stężenie jest wyższe;
- Autorka w pracy wielokrotnie używa sformułowania wartość, zamiast stężenie np. str 82 „Zaobserwowano również istotnie wyższe wartości TSH w grupie osób z udarem niedokrwiennym mózgu w stosunku do grupy kontrolnej”;
- Szkoda, że Autorka nie wyodrębniła jednego podrozdziału podsumowanie wyników, co ze względu na dużą liczbę wyników pozwoliłoby Czytelnikowi na szybsze zorientowanie się w uzyskanych wynikach.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka wykazała nie tylko umiejętnością poruszania się problematyce tematu, ale na tym tle przedstawiła uzyskane przez siebie wyniki. Podkreślenia wymaga fakt, że często dyskusja jest trudna ze względu na nowatorski charakter pracy.

Wnioski wynikają ściśle z przeprowadzonych badań i w pełni korelują z postawionymi celami pracy.

Przegląd bibliografii opracowany został w oparciu o 442 pozycje literaturowe dobrze dobrane i zacytowane, w większości z ostatnich lat. Autorka posiada dużą znajomość literatury przedmiotu. Jednakże Doktorantka nie ujednoliciła formatu spisu piśmiennictwa np. podawanie stron publikacji.

Podkreślenia wymaga również fakt, że powyższa praca jest częścią projektu finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach Programu Iuventus Plus (grant nr IP 2012 009472).

Przystępując do oceny całości stwierdzam, że praca lek. Aleksandry Turek -Jakubowskiej stanowi bardzo wartościowy i nowatorski dorobek naukowy. Przedstawione uwagi krytyczne wyrażone w niniejszej recenzji nie wpływają na moją wysoką ocenę rezultatów przedstawionych w pracy. Autorka wykazała się znajomością piśmiennictwa z zakresu pracy, w sposób umiejętny zaplanowała i przeprowadziła eksperyment, którego wyniki starannie udokumentowała, a w ich omówienie i dyskusję wniosła własne i oryginalne elementy. Rozprawa posiada nowatorski i praktyczny charakter, wnosząc nowe informacje o proteomie i peptydomie osocza oraz dysfunkcji śródbłonna u pacjentów ze świeżym udarem niedokrwiennym mózgu. Warto podkreślić, że wykazanie przez Doktorantkę (jest to

pierwsze badanie kliniczne) dynamiki zmian w proteomie osocza może być w przyszłości pomocne w rozpoznaniu dorzutu udaru, ale także umożliwić ocenę tempa powrotu do zdrowia. Ponadto wykazanie dysfunkcji śródbłonna u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu jako zaburzenia ogólnoustrojowego może otworzyć drogę dla próby terapii śródbłonna jako leczenia etiotropowego, zmniejszającego ryzyko i rozległość udaru. Należy podkreślić, że prowadzone badania przez Autorkę mają charakter pionierski. Doktorantka po raz pierwszy oceniła w sposób dynamiczny funkcję śródbłonna naczyniowego u osób z udarem niedokrwiennym mózgu i wskazała na zespół czynników upośledzających jego funkcję.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Aleksandry Turek-Jakubowskiej spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.), w związku z czym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o przyjęcie dysertacji pt. „Dynamiczna ocena wybranych aspektów patofizjologii świeżego udaru niedokrwiennego mózgu ze szczególnym uwzględnieniem zmian proteomu osocza ” jako rozprawy doktorskiej, dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych oraz wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.

