Dr hab. Andrzej Mital
Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii,
Gdański Uniwersytet Medyczny
Ul. Smoluchowskiego 17
80-214 Gdańsk

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agaty Gołaszewskiej pt:"Ocena wpływu adrenaliny na aktywność płytek krwi zdrowych ochotników" wykonana pod kierunkiem dr hab. n. med. Tomasza Rusaka i dr n. med. Tomasza Misztala

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pani mgr Agaty Gołaszewskiej pt. „Ocena wpływu adrenaliny na aktywność płytek krwi zdrowych ochotników" liczy łącznie 168 stron. Zawiera 7 tabel i 49 rycin. W strukturze treści rozprawy występują następujące rozdziały: wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie, wykaz tabel i rycin oraz piśmiennictwo. Od strony formalnej konstrukcja pracy jest poprawna. Treść pracy odpowiada tematowi określonemu w tytule. Strona graficzna recenzowanej rozprawy doktorskiej również jest poprawna. Pod względem edytorskim jest dobrze przygotowana, ale miejscami występują błędy i niedopatrzenia, co zostanie przedstawione w dalszej części recenzji.

Pani mgr Agata Gołaszewska zajęła się oceną wpływu klinicznie istotnych stężeń adrenaliny na: adhezję, agregację i sekrecję płytek krwi, formowanie agregatów płytkowych w warunkach reologicznych zbliżonych do fizjologicznych, retrakcję skrzepu, powstawanie odpowiedzi prokoagulacyjnej, kinetykę formowania i architekturę skrzepów fibrynowo-płytkowych oraz kinetykę fibrynolizy. Scharakteryzowała również szlak sygnałowy indukowany przez adrenalinę w ludzkich płytkach krwi. Wyniki badań pani mgr Gołaszewskiej wskazują, że stężenia adrenaliny w zakresie 1-10 nM są w stanie wywołać agregację płytek, ale w kontakcie z niskimi stężeniami kolagenu. Efekt ten występuje również w warunkach przepływu charakteryzującym się szybkością ścinania 1600 s-1. W eksperymentalnych warunkach, w obecności ADP i przy braku trombiny, adrenalina wpływała na wzrost szybkości retrakcji skrzepu. Istotne klinicznie stężenia adrenaliny (1-10 nM) bez udziału trombiny wywoływały istotny wzrost płytkowego indeksu prokoagulacyjnego. W swoich badaniach

wykazała, że wzrost odpowiedzi prokoagulacyjnej w obecności adrenaliny i kolagenu znacząco nasilał inicjację krzepnięcia oraz szybkość formowania skrzepu. Autorka wykazała, że adrenalina odgrywa istotną rolę w modulowaniu struktury skrzepu, która okazała się być bardziej odporna na fibrynolizę. Skrzepy w obecności adrenaliny miały gęstszą strukturę, szybciej się obkurczały i wolniej podlegały fibrynolizie. Doktorantka zbadała również wpływ różnych antagonistów receptorów płytkowych, wpływ jonów Ca2+ i Na+ w środowisku zewnętrznym płytek krwi na ekspresję fosfatydyloseryny wywołanej adrenaliną. następnie przedstawiła hipotetyczny schemat szlaku sygnałowego indukowanego przez adrenalinę w płytkach krwi. Pomimo dobrego przygotowania i dobrej prezentacji dostrzeżono szereg niedociągnięć i błędów.

Pierwsze z nich są obecne już w „Spisie treści", gdzie rozdziały pracy zostały podzielone na podrozdziały w sposób hierarchiczny i czytelny. Jednak numeracja podrozdziałów nie powinna być większa niż 3-stopniowa. W spisie treści mamy taką numerację i to jest w porządku, ale w pracy pojawia się dalsze dzielenie podrozdziałów na 4-stopniowe, np. podrozdział 4.3.6.1. na stronie 62 omawianej rozprawy. Dodatkowo, podrozdziały 4-stopniowe nie zostały przedstawione w „Spisie treści".

„Wstęp" pracy jest silnie rozbudowany, liczy 42 strony, co stanowi 25% wszystkich stron pracy doktorskiej. Jest tam zawarta podstawowa informacja o powstawaniu, budowie płytek krwi i ich roli w hemostazie. W drugiej części Wstępu występuje charakterystyka adrenaliny, wpływ adrenaliny na hemostazę oraz mechanizm aktywacji płytek przez adrenalinę. Oprócz szerokiego opisu tych zagadnień na podstawie 176 pozycji bibliograficznych, Autorka wskazuje również na braki występujące w współczesnej nauce, które w pełni wytłumaczyłyby wpływ adrenaliny na aktywność płytek krwi. W oparciu o dostępne dane bibliograficzne przedstawiła graficznie schemat działania adrenaliny na płytki krwi. Pomimo obszernego opracowania tego rozdziału, zabrakło w nim uzasadnienia, dlaczego Doktorantka podjęła się takiego tematu pracy badawczej. Nie ma jasno sformułowanych hipotez badawczych. Odczuwa się niedosyt powiązania dotychczasowej wiedzy z celami postawionymi w tej rozprawie. Cel pracy, który często w pracach naukowych jest połączony ze Wstępem, pojawił się w rozprawie Doktorantki w wyodrębnionym trzecim rozdziale. Najpierw jest napisany ogólnie, a następnie w podrozdziale rozbity na szczegółowe cele. Jest to zabieg dopuszczalny, jednak trochę odczuwa się oderwanie sformułowanych celów od rozważań we Wstępie. Odnosi się wrażenie, że odpowiedzi na cele stawiane przez Doktorantkę zostały w przedstawione wcześniej.

Następny rozdział „Materiały i metody" powinien być napisany bardzo precyzyjnie. Niestety w pracy doktorskiej pani mgr Agaty Gołaszewskiej materiał badań jest niedostatecznie

opisany. Na podstawie tego rozdziału wiemy jedynie, że zdrowi ochotnicy, od których pobierano krew w okresie dwóch tygodni przed badaniami, nie przyjmowali aspiryny i innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Nic więcej. Nie podano kim byli zdrowi ochotnicy, na jakiej podstawie ustalono, że są zdrowi. Nie wiemy, w jakich latach wykonano badania. Nie wiemy, ile osób uczestniczyło w badaniach, a więc nieznana jest wielkość próby. Nie wiemy czy byli to mężczyźni, kobiety, w jakim wieku, jaka masa ciała itd. W publikacjach naukowych o podobnej tematyce, autorzy dokładnie charakteryzują zdrowych ochotników, np. Singh et al. 2019 w czasopiśmie *Thrombosis and Haemostasis* Vol. 119 No. 5 w artykule pt: „*Adrenaline improves platelet reactivity in ticagrelor-treated healthy volunteers*".
Jeśli natomiast chodzi o metody badawcze w rozprawie mgr Agaty Gołaszewskiej to można stwierdzić, że są w pełni opisane. Nie mam do tej części uwag.

Analiza statystyczna jest poprawna. Wykorzystano do porównań najprostsze testy statystyczne. Nadal nie wiemy jak duża była próba badawcza.

„Wyniki badań" zostały przedstawione wyłącznie w formie rycin, łącznie 28. Pod każdą ryciną podana jest wielkość próby n. Liczebność próby w pracy jest w granicach od 3 (ryc. 23, 24) do 16 (ryc. 28). Nigdzie w pracy nie ma informacji na temat, dlaczego Autorka wykonała tyle prób, ile było powtórzeń. W rozprawach doktorskich jest wystarczająco dużo miejsca, żeby tego dokonać. Mam obawy, że badania zostały wykonane na zbyt niskiej liczbie prób. Mimo pewnych niedociągnięć, oceniam ten rozdział jako dobrze opracowany. Wyniki badań zostały przedstawione poprawnie i w sposób przejrzysty.

„Dyskusja" obejmuje 21 stron i jest napisana bardzo dobrze. Doktorantka omawia swoje wyniki w odniesieniu do danych bibliograficznych. Analizuje i sprawnie tłumaczy różnice oraz podobieństwa. Korzysta w tym miejscu z najnowszych osiągnięć naukowych. Nie mam zatem uwag do tej części pracy. Warto w tym miejscu przypomnieć, że język (styl) naukowy powinien być pozbawiony nacechowania emocjonalnego i należy unikać zwrotów typu: „interesująca jest obserwacja", albo „jest ciekawy" – wyrażenia występujące na stronie 131, a także zwrot „niezwykle interesująca jest obserwacja" na stronie 134. Na szczęście te i podobne zwroty występują sporadycznie w rozprawie doktorskiej.

Autorka sformułowała 6 wniosków końcowych. Pierwszy jest ogólny i został tak sformułowany, że nie wiadomo czy wynika z badań Autorki czy też został napisany na podstawie danych bibliograficznych. Wnioski końcowe powinny opierać się na badaniach własnych, co należy w jakiś krótki sposób zaznaczyć. Trzeci wniosek dotyczy efektu wywieranego przez adrenalinę, jednak Autorka nie dodała na co. W czwartym i piątym wniosku pojawia się zwrot „wydają się być". Należy takich zwrotów unikać w języku naukowym i być

bardziej precyzyjnym. Wnioski końcowe są ważną częścią każdej rozprawy i najczęściej to one przyciągają uwagę czytelnika, który chce szybko rozeznać o czym jest praca, dlatego powinny być napisane precyzyjnie i bezbłędnie.

Streszczenie pracy jest w języku polskim i również w języku angielskim. Zawiera cel pracy i krótką charakterystykę wyników badań. Nie mam żadnych uwag ponieważ streszczenie zostało dobrze opisane.

Piśmiennictwo stanowi 246 pozycji naukowych obejmujących najnowsze osiągnięcia nauki. Pozycje 110, 111 i 112 nie zostały ujęte w tekście rozprawy. Innych błędów w tej części pracy nie zauważono.

W pracy doktorskiej Autorka stosuje pogrubioną czcionkę w opisach rycin i tabel. Nie wygląda to najlepiej, nie ma powodu do takiego wyszczególniania tekstu. Jednak najbardziej razi połączenie opisu rycin z tekstem poniżej rycin np. rycina 38, 39. Należy przypomnieć, że wykres graficzny wraz z opisem ryciny stanowi jedną nierozerwalną całość, która powinna wyodrębniać się od pozostałego tekstu pracy. Tego nie ma w rozprawie doktorskiej. Opis ryciny powinien być możliwie jak najkrótszy. Szczegóły opisujące wykres powinny znaleźć się w tekście przed ryciną. Od strony edytorskiej opracowanie tabel i rycin nie jest najlepsze.

W pracy występują błędnie zapisane liczby dziesiętne. W zapisie takiej liczby powinien znaleźć się przecinek, a nie kropka. W języku polskim przedstawia się liczby dziesiętne z przecinkiem, zaś w języku angielskim jest to kropka. Jest tego bardzo dużo w pracy, ale za przykład niech posłuży strona 109. Podana jest tam wartość 62.5 μM, poziom istotności $p<0.05$. Niby jest to mało znaczący szczegół, ale podczas pisania prac obowiązują twarde zasady, o których nie należy zapominać. Nie może być w tym względzie dowolności.

Podsumowując, praca jest ciekawa. Autorka wyznaczyła i sprecyzowała cele badawcze. Uzyskała odpowiedzi na nie za pomocą licznie przeprowadzonych eksperymentów. Korzystała z najnowszych metod badawczych, a uzyskane wyniki badań mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia wpływu adrenaliny na aktywność płytek krwi. Praca ma również znaczenie kliniczne, ponieważ służy wyjaśnianiu procesów zakrzepowych w naczyniach o patologicznie zmienionym przepływie np. w przebiegu miażdżycy. Infuzja adrenaliny może być nową metodą poprawy czynności płytek krwi u pacjentów leczonych tikagrelorem, którzy wymagają zabiegu chirurgicznego.

Pomimo stosunkowo licznych błędów edytorskich oraz niedociągnięć w opisie materiału badawczego dobrze oceniam pracę. Stwierdzam, że rozprawa doktorska pani mgr Agaty Gołaszewskiej spełnia warunki określone 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 (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

W związku z powyższym zwracam się do Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Agaty Gołaszewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk, dnia 30 czerwca 2021 r.

dr hab. Andrzej Mital