Zabrze 2020.11.24

Dr hab. n. med. Adam Sokal

asokal@sccs.pl

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarz Moniki Ewy Gil-Klimek pt.: *Pentraksyna 3 jako marker rozwoju i stopnia zaawansowania choroby wieńcowej*

Przedstawiona do recenzji praca lek. Moniki Ewy Gil-Klimek jest próbą kompleksowej oceny roli pentraksyny-3 w patogenezie miażdżycy oraz jej przydatności jako markera w chorobie wieńcowej.

Ocena merytoryczna pracy:

a) Trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność

Miażdżyca i jej najważniejsza klinicznie manifestacja, jaką jest choroba niedokrwienna serca, stanowią obecnie jeden z największych problemów zdrowotnych społeczeństw rozwiniętych. Jest ona, oprócz chorób nowotworowych, jedną z najczęstszych przyczyn zgonów. Ciągły wzrost częstości występowania choroby wieńcowej jest po części następstwem wzrostu średniej długości życia i zwiększenia liczby osób w zaawansowanym wieku. Od czasów badania Framingham liczba znanych czynników ryzyka miażdżycy stale rośnie. Poza klasycznymi czynnikami, takimi jak: wiek, płeć, podwyższone ciśnienie tętnicze, palenie tytoniu oraz zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej (cukrzyca), identyfikowane są wciąż nowe markery i substancje zaangażowane w patogenezę miażdżycy. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, punktem wyjściowym procesu miażdżycowego jest stan zapalny śródbłonka powodujący jego dysfunkcję. Stąd coraz większe zainteresowanie w kontekście patogenezy miażdżycy zaczynają wzbudzać substancje, będące mediatorami bądź markerami lokalnego procesu zapalnego. Należą do nich takie czynniki, jak: białko C reaktywne (CRP), amyloid A, interleukina 1 (IL-1), czynnik martwicy nowotworów α (TNF-α) oraz interleukina 6 (IL-6) i cząstki adhezyjne (selektyny E i P, VCAM-1, ICAM-1). Związek pomiędzy podwyższeniem stężenia białka C reaktywnego a zwiększeniem ryzyka miażdżycy był opisywany od dawna. Białko C reaktywne jest najstarszym znanym białkiem z rodziny pentraksyn. Jest ono produkowane w wątrobie, a jego synteza i uwalnianie jest stymulowane przede wszystkim przez IL-6. Jest czułym, ale mało swoistym markerem procesu zapalnego śródbłonka. W przeciwieństwie do CRP, odkryta znacznie później pentraksyna-3 (PTX-3), będąca tak zwaną dużą pentraksyną, wydaje się być znacznie bardziej swoista w stosunku do procesu zapalnego toczącego się w obrębie śródbłonka. Jest ona produkowana przede wszystkim przez komórki linii mieloidalnej (w tym monocyty oraz makrofagi), ale może być również wytwarzana przez komórki śródbłonka, fibroblasty, komórki mięśni gładkich adipocyty i komórki epitelialne. Uwalnianie i synteza pentraksyny3 jest stymulowane przez IL-1, TNF-α oraz agonistów receptorów *toll-like* (*toll* podobnych). W ostatniej dekadzie

As.

zainteresowanie pentraksyną-3 w kontekście jej roli w patogenezie miażdżycy oraz choroby wieńcowej, w tym patogenezie ostrych epizodów wieńcowych, budzi szczególne zainteresowanie. Liczba publikacji poświęconych temu białku w stosunku do pierwszej dekady XXI wieku wzrosła ponad stukrotnie. Pomimo to rola tego białka w patogenezie miażdżycy oraz jego znaczenie jako markera i czynnika ryzyka choroby wieńcowej pozostaje niejasna. Realizacja celów pracy, które doktorantka definiuje jako: „*Ustalenie roli PTX3 w rozwoju i progresji miażdżycy, a w szczególności:*

1. *Ocena związku PTX3 z klasycznymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca, w tym z grubością kompleksy intima-media (IMT) oraz obecnością blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych*
2. *Weryfikacji roli tego białka jako niezależnego czynnika ryzyka miażdżycy*
3. *Analizy przydatności oceny stężenia PTX3 w prognozowaniu zaawansowania zmian miażdżycowych w tt. wieńcowych oraz ryzyka wystąpienia ostrego zespołu wieńcowego*

dostarczyłaby danych pozwalających na rozstrzygnięcie licznych kontrowersji dotyczących znaczenia wspomnianego białka dla patogenezy miażdżycy oraz jego ewentualnego zastosowania jako biomarkera. W świetle przedstawionych powyżej argumentów, dobór problematyki badawczej przez doktorantkę wydaje się być wybitnie trafny i aktualny.

b) Uzyskane rezultaty i ich znaczenie dla nauki i praktyki

Do badania włączono 114 pacjentów z zawałem serca (ACS) hospitalizowanych w latach 2014-2017 w Klinice Kardiologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, 98 pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową (CCS) hospitalizowanych w tej samej Klinice oraz 40 pacjentów dobranych pod względem płci i wieku, bez zmian miażdżycowych w tt. wieńcowych, którzy stanowili grupę kontrolną. Załączone charakterystyki badanych populacji są kompletne i przedstawione czytelnie. Badanie wykazało, że stężenie PTX3 w populacji pacjentów z grubością kompleksu intima-media (IMT) > 0,9 mm było istotnie wyższe niż stężenie tego białka w populacji pacjentów z grubością IMT ≤ 0,9 mm (Ryc. 24). Ponadto stężenie PTX3 u pacjentów ze zmianami miażdżycowymi w tt. wieńcowych (ACS, CCS) było istotnie wyższe od stężeń tego białka w populacji pacjentów bez zmian miażdżycowych (Ryc. 14, paragraf 5.6). Jednocześnie nie obserwowano zależności pomiędzy stężeniem pentraksyny a liczbą zajętych tętnic wieńcowych. Spostrzeżenia te w sposób jednoznaczny potwierdzają związek PTX3 z miażdżycą. W dalszej części pracy autorka wykazuje, że stężenie PTX3 jest niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycy tt wieńcowych (Ryc. 32) i wystąpienia zawału serca (Ryc. 33). Analiza metodą regresji logistycznej została poparta wynikami analizy ROC, w której wykazano, że stężenie PTX3 powyżej 0,93 ng/ml w pierwszej dobie zawału serca jest wysoko czułym, ale nieswoistym markerem występowania zmian miażdżycowych. Ponadto stężenie pentraksyny-3 było mało czułym i umiarkowanie swoistym markerem zawału serca i nie miało wpływu na różnicowanie jedno- i wielonaczyniowej choroby wieńcowej. Uzyskane wyniki w pełni wyczerpują zadania postawione w celach pracy i stanowią istotny wkład w dyskusję dotyczącą roli pentraksyny-3 w patogenezie miażdżycy i jej znaczenia jako

Ms.

potencjalnego markera i czynnika ryzyka chorób będących jej klinicznymi manifestacjami, a w szczególności choroby niedokrwiennej serca.

c) Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Praca jest napisana w sposób poprawny i łatwy do zrozumienia. Niestety doktorantka nie ustrzegła się w tekście pewnych kolokwializmów, nie zawsze trafnych określeń oraz nielicznych literówek. Dla przykładu na stronie 31. autorka pisze o „tool podobnych receptorach". Chodzi jej zapewne o receptory *toll* podobne lub poprawniej receptory *toll like* (ich nazwa wywodzi się od niemieckiego słowa *toll*, co oznacza świetny, świetnie i pochodzi ze zdania wypowiedzianego przez niemiecką noblistkę Christiane Nüsslein-Volhard: „*Das war ja toll*"). W spisie skrótów pisownia nazwy wspomnianego receptora podana jest w sposób poprawny. Podobnych nieścisłości lub słów użytych w niewłaściwym kontekście można w tekście znaleźć kilka. Jednakże wobec objętości pracy (liczy ona 120 stron bez spisu treści i literatury), stanowią one nieistotny margines. Niezależnie od powyższych drobnych uwag pracę należy uznać za poprawną pod względem formalno-językowym, stylistycznym i interpunkcyjnym.

Ocena metodologiczna pracy:

a) Dobór literatury, umiejętność wykorzystania źródeł

Autorka cytuje w swojej pracy 237 pozycji literaturowych. Są one prawidłowo dobrane i trafnie zacytowane. Dobór literatury, jak i umiejętność odnoszenia się do niej w argumentowaniu i wyjaśnianiu analizowanych kwestii wskazują na gruntowną orientację w zagadnieniach omawianych w pracy i świadczą o umiejętnym korzystaniu z dostępnych źródeł. Niestety sposób przedstawienia literatury obciążony jest pewną niestarannością edytorską. Doktorantka wielokrotnie pomija spację pomiędzy nazwiskiem a pierwszą literą imienia autorów cytowanych prac. Cyfrowy identyfikator dokumentu elektronicznego (DOI) podawany jest bardzo niekonsekwentnie.

b) Poprawność formułowania problemów i hipotez (założeń badawczych)

Problemy badawcze, których rozwiązania podjęła się autorka ocenianej pracy zostały zacytowane we wcześniejszej części tej recenzji. Są one sformułowane prawidłowo, jednoznacznie i w sposób adekwatny do analizowanego materiału.

c) Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania

Sposób i kryteria włączenia pacjentów do analizy został omówiony kompletnie i prawidłowo. Opis zakresu analizowanych danych oraz stosowanych narzędzi badawczych również nie wzbudza zastrzeżeń. Metody analizy statystycznej zostały dobrane prawidłowo z uwzględnieniem ograniczeń narzucanych przez wielkość próbki. W prezentacji wyników wydaje się właściwym podanie w tabelach rzeczywistych wartości istotności statystycznych, również jeśli różnice nie były istotne (ns). Ponieważ grupa badana jest relatywnie mała, brak istotności statystycznej w wielu przypadkach mógł być następstwem małej liczności próbki.

M

W świetle powyższego, uzyskane wartości bliskie przyjętej granicy istotności winny zostać odnotowane i w miarę możliwości omówione w dyskusji.

d) Prawidłowość układu pracy i struktury podziału treści

Praca ma typowy układ. Obejmuje 126 stron tekstu wraz ze streszczeniem w języku polskim i angielskim (165 wraz z literaturą, spisem skrótów i rycin). Proporcje pomiędzy poszczególnymi częściami pracy są prawidłowe.

We wstępie autorka omawia zagadnienia dotyczące epidemiologii i patogenezy miażdżycy oraz jej czynników ryzyka. Dostarcza ponadto niezbędnych informacji z zakresu biologii pentraksyny-3 i jej powiązań z etiopatogenezą miażdżycy i choroby wieńcowej. W mojej opinii informacje dotyczące czynników ryzyka miażdżycy, w szczególności klasycznych, mogłyby być przedstawione w sposób bardziej skrótowy i syntetyczny, gdyż stanowią one zagadnienia ogólnie znane.

W części metodologia autorka omawia metody badawcze stosowane w pracy. Zagadnienia dotyczące charakterystyki populacji badanych w mojej opinii byłoby lepiej umiejscowić w rozdziale wyniki. Pewnego doprecyzowania wymaga niestety stosowane słownictwo. Dla przykładu, autorka pisze, że badanie przeprowadzono w dwóch grupach. W rzeczywistości były trzy grupy, w tym dwie badane i jedna kontrolna. Metodykę pracy można uznać za opisaną w sposób zrozumiały, kompletny i niepozostawiający wątpliwości w trakcie interpretacji uzyskanych wyników.

Wyniki, poza tekstem, przedstawione zostały w 5. tabelach i 36. rycinach. Są one opisane kompletnie i przejrzyście. Niestety, nie udało się doktorantce uniknąć redundancji w prezentacji wyników. Dane zawarte w tekście są powtarzane w tabelach i na załączonych rycinach.

Dyskusja obejmuje 19 stron i w sposób wyczerpujący omawia znaczenie uzyskanych wyników w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy. Jak wspomniano wcześniej, zarówno dobór literatury, jak i sposób odniesienia się do niej w dyskusji wskazują na gruntowną orientację doktorantki w przedmiocie pracy, jak i krytyczną ocenę uzyskanych przez siebie wyników i nie wzbudzają zastrzeżeń.

e) Uwagi i propozycje

Praca nie ma istotnych ograniczeń i większość uwag ma charakter czysto marginalny. Odnoszą się one do drobnych omawianych powyżej kwestii dotyczących doboru słownictwa i sposobu prezentacji uzyskanych wyników. Z obowiązku recenzenta chciałbym jedynie zwrócić uwagę na kilka zagadnień wymagających doprecyzowania:

1. Jakie były wartości parametrów regresji dla korelacji pomiędzy stężeniem PTX3 a NYHA przedstawionej na rycinie 22.?
2. Jaką metodą wyznaczono wartości parametrów odcięcia w analizowanych krzywych ROC?
3. Jak doktorantka tłumaczy istotnie niższe stężenia PTX3 u pacjentów przyjmujących statyny (Ryc. 20) i jak powiązać niskie stężenia PTX3 u pacjentów leczonych statynami

AS.

z ujemnymi korelacjami pomiędzy stężeniami PTX3 a stężeniami cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL i cholesterolu HDL?

4. Czy doktorantka posiada jakieś dane dotyczące obserwacji odległej pacjentów z grupy ACS i CCS?

Przedstawione uwagi są co najwyżej sugestiami do rozważenia przy dalszym opracowywaniu wyników i ewentualnych publikacjach, w niczym nie umniejszając w mojej ocenie wysokiej wartości pracy. Niniejsza praca w zupełności spełnia ustawowe wymogi stawiane przed dysertacjami na stopień doktora nauk medycznych określone w artykule 13 ust. 1. Ustawy z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki i § 6.3 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 3 października 2014 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami).

Dlatego zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Moniki Ewy Gil-Klimek z Katedry i Kliniki Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Adam Sokal

dr hab. n. med. Adam Sokal
specjalista chorób wewnętrznych
kardiolog
43-400 Cieszyn, ul. Stalmacha 32/2
1716183