UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE
KATEDRA FARMAKOLOGII DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ
ul. Jaczewskiego 8b (Collegium Pathologicum), 20-090 Lublin
tel.: +48 81448 6450; faks: +48 81448 6451
e-mail tomasz.kocki@umlub.pl

---

dr hab. n. med. Tomasz Kocki

Lublin, 10.02.2020 r.

O C E N A

pracy doktorskiej lek. Justyny Żółtko-Szydłowskiej

Wpływ enoksaparyny na wewnątrznaczyniowe uwalnianie sklerostyny u osób zdrowych.

Tematyka badawcza podjęta przez Panią **lek. Justynę Żółtko-Szydłowską** dotyczy istotnego problemu związanego z przewlekłą farmakoterapią enoksaparyną. Enoksaparyna to obecnie najlepiej przebadana heparyna drobnocząsteczkowa, której wskazania kliniczne obejmują profilaktykę żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej, zatorowość płucną, nawracającą żylną chorobę zakrzepowo-zatorową, zawał mięśnia sercowego oraz u kobiet w ciąży, u których istnieją wskazania do przewlekłej antykoagulacji. Ponadto jest lekiem stosowanym podczas hemodializy w celu zapobiegania tworzenia pozaustrojowych skrzepów w czasie leczenia nerkozastępczego.

Jeszcze kilkadziesiąt lat temu lat temu rozpoznanie schyłkowej niewydolności nerek kończyło się zazwyczaj śmiercią. Obecnie zastosowanie leczenia nerkozastępczego, hemodializy zwiększa szanse na przeżycie dla pacjentów oczekujących na transplantację nerki ale także dla tych którzy nie zostali zakwalifikowani do tego typu procedury. Podczas hemodializy, w celu zapobiegania wykrzepianiu oczyszczanej krwi, pacjenci otrzymują heparynę w ogromnej kumulacyjnej dawce około 8000 mg heparyny drobnocząsteczkowej rocznie.

Wśród wielu czynników na które wpływa enoksaparyna jest sklerostyna. Jest to substancja wytwarzana przede wszystkim przez dojrzałe osteocyty. Najpowszechniej znaną właściwością biologiczną sklerostyny jest hamowanie kościotworzenia w obrębie szkieletu. Jej funkcja

związana jest z hamowaniem różnicowania i proliferacji osteoblastów oraz nasilenia ich apoptozy. Badania naukowe wskazują, że sklerostyna może być endogennym czynnikiem przeciwdziałającym lub ograniczającym kalcyfikacje tętnic. Naczynia krwionośne są źródłem sklerostyny w osoczu, co uzasadniania jeszcze bardziej jej znaczenie w procesach wapnienia naczyń krwionośnych. Kalcyfikacja tętnic może być czynnikiem wyzwalającym lub/i przyśpieszającym nadciśnienie tętnicze, chorobę niedokrwienną serca, zastoinową niewydolność serca oraz stwarza ryzyko niedokrwienia i amputacji kończyn dolnych.

Rozprawa doktorska Pani lek. Justyny Żółtko-Szydłowskiej pt. „**Wpływ enoksaparyny na wewnątrznaczyniowe uwalnianie sklerostyny u osób zdrowych**" wpisuje się doskonale w tą tematykę badawczą. Badania podjęte przez Doktorankę wymagały znacznego nakładu pracy i czasu, ale mają jednocześnie ogromne praktyczne zastosowanie w dalszych badaniach nad przeciwdziałaniem efektom niepożądanym długotrwale stosowanych w klinice heparyn drobnocząsteczkowych.

Jednocześnie tezy zawarte w niniejszej dysertacji stanowią kontynuację badań nad pleotropowymi właściwościami enoksaparyny, prowadzonych konsekwentnie od blisko 20 lat w I Klinice Nefrologii i Transplantologii z Ośrodkiem Dializ Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Przedłożona do oceny praca została wykonana w I Klinice Nefrologii i Transplantologii z Ośrodkiem Dializ Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Jacka Borawskiego.

Niniejsza dysertacja ma typowy układ dla prac doktorskich. Praca obejmuje 51 stron oprawionego wydruku komputerowego formatu A4. Posiada typowy układ edytorski: spis treści; wstęp, wprowadzający w tematykę dysertacji; cele i założenia pracy; osoby badane i metody; wyniki; dyskusja; wnioski; streszczenie w języku polskim i angielskim, Lista skrótów i symboli; Spis rycin i tabel oraz piśmiennictwo zawierające 55 numerowanych pozycji.

Kolejność rozdziałów i cytowane piśmiennictwo nie budzą zastrzeżeń recenzenta. Rozprawa zawiera 6 tabel oraz 15 rycin, które ułatwiają zrozumienie omawianych zagadnień i wyników.

Wykaz skrótów umieszczony na końcu pracy doktorskiej opracowano starannie i szczegółowo. Jednak brakuje wyjaśnienia kilku skrótów, które pojawiają w tekście pracy doktorskiej np. LMWH czy TFPI czy rho. Źle jest także wyjaśniony skrót c.c. nie jest to ciężar ciała ale masa ciała.

Rozprawę otwiera wstęp, podzielony na cztery podrozdziały. Doktorantka wprowadza czytelnika w bardzo przystępny sposób z definicją i problemami związanymi rolą biologiczną sklerostyny i patomechanizmami zwapnienia naczyń tętniczych. Ponadto Doktorantka w tej części Wstępu przedstawiła rolę sklerostyny w tym procesie. Rozdział wzbogaciły ryciny przedstawiające schematy działania sklerostyny. Jednak ta ciekawa część pracy w moim odczuciu powinna być ubogacona o krótki podrozdział dotyczący znaczenia klinicznego enoksaparyny.

W oparciu o przesłanki przedstawione we wstępie został precyzyjnie sformułowany cel rozprawy, którym była (1) ocena stężenia sklerostyny mierzonego referencyjną metodą immunoenzymatyczną w osoczu krwi; (2) ocena wpływu dożylnego wstrzyknięcia heparyny drobnocząsteczkowej, enoksaparyny na stężenie sklerostyny w osoczu wolontariuszy; (3) ujawnienie czynników powiązanych/warunkujących/wpływających na zmiany stężenia sklerostyny zachodzące po podaniu enoksaparyny; (4) ocena potencjalnego wpływu/ interferencji enoksaparyny obecnej we krwi pełnej *ex vivo* i ich inkubacji na wyniki pomiaru sklerostyny w osoczu przy użyciu stosowanego testu immunoenzymatycznego.

Do badania zakwalifikowano 16 ochotników płci męskiej. Liczebność grupy badanej może stanowić ograniczenie niniejszej pracy, jednak Doktorantka wskazuje na trudności z pozyskaniem stosownej grupy ze względu na dosyć restrykcyjne, ale konieczne kryteria wykluczające ochotników z udziału w badaniu. Optymalnie dążono do rekrutacji zdrowych mężczyzn w wieku średnim i starszym, w celu późniejszych ewentualnych badań porównawczych z populacją pacjentów przewlekle hemodializowanych. Stan zdrowia uczestników zweryfikowano na podstawie wywiadu lekarskiego, badania fizykalnego, wybranych badań laboratoryjnych i weryfikacji ewentualnej dokumentacji medycznej. Zwrócono szczególną uwagę na stan psychiczny, ciśnienie tętnicze krwi, historię nadwrażliwości na leki oraz: morfologię krwi pełnej, badanie ogólne moczu, stężenie białka C-reaktywnego w surowicy, kreatyniny, aktywność enzymów wątrobowych i markerów WZW B i C oraz HIV, stężenie glukozy we krwi i rutynowe testy hemostatyczne. Protokół badania był zgodny z Deklaracją Helsińską. Badanie przeprowadzono według zasad *Good Clinical Practice* po uprzedniej akceptacji protokołu przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (Nr R-I-002/197/2015). Przeprowadzona analiza statystyczna wraz z zastosowanymi obliczeniami statystycznymi nie budzi zastrzeżeń.

Do tej części pracy doktorskiej mam pytanie: Dlaczego tylko mężczyźni zostali zakwalifikowani do grupy badanej? Czy nie byłoby zasadne zwiększenie grupy badanej i/lub rozszerzenie o płeć żeńską?

W Rozdziale „Wyniki" Doktorantka w sposób klarowny przedstawia interesujące wyniki badań własnych. Potwierdzono istotny wzrost poziomu sklerostyny po dożylnym podaniu enoksaparyny. W wynikach stwierdzono bezpośrednią zależność pomiędzy procentowym przyrostem stężenia sklerostyny w osoczu z dawką enoksaparyny/kg mc. Ponadto Doktorantka wykluczyła wpływ czynników zewnętrznych na zmiany poziomów sklerostyny we krwi. Autorka w odpowiednim miejscu do każdego opisu wyniku badań dołączyła ryciny, co bardzo ułatwia czytającemu szybką weryfikacje rezultatów badań. Wyniki są oryginalne i zasługują na wysoka ocenę merytoryczną.

Uwagi dotyczące tego rozdziału są następujące: Należałoby ujednolicić wartości prawdopodobieństwa statystyki testu P, w niektórych wynikach podano wartość z kropką, zamiast przecinka jak w innych wynikach pracy. Ponadto poziom prawdopodobieństwa powinien być oznaczany dużą litera P. Inna drobna uwaga dotyczy ujednolicenia ilości miejsc po przecinku dla wartości liczbowych np. rycina 6 i 7, str. 24.

Omówienie wyników zawarte w Rozdziale „Dyskusja" jest ciekawie poprowadzone i czyta się z dużym zainteresowaniem. Autorka umiejętnie łączy dane z piśmiennictwa z własnymi wynikami. W dyskusji Doktorantka podkreśliła, że enoksaparyna jak i inne heparyny traktowane są zwykle jako leki antykoagulacyjne. Jednak badania wykonane w niniejszej dysertacji dowodzą o zupełnie nowych, niezwykle istotnych działaniach przewlekłego podawania ogromnych kumulacyjnych dawkek enoksaparyny szczególnie u osób hemodializowanych. Może to prowadzić do uwalniania sklerostyny z łożyska naczyniowego i powodować nasilenie szkodliwych procesów zwapnienia tętnic i odpowiadać za wzrost śmiertelności wśród pacjentów.

Wnioski stanowiące logiczne podsumowanie wyników rozprawy doktorskiej zawarto w 3 punktach. Za najważniejszy uważam wniosek drugi, który wskazuje, że uwalnianie sklerostyny z naczyń krwionośnych może nasilać szkodliwy proces zwapnienia tętnic.

Streszczenia w języku polski i angielskim prezentują najważniejsze problemy i zagadnienia omawiane w pracy doktorskiej.

Przedstawione powyżej uwagi są jednak nieliczne i nie umniejszają wartości przedstawionej dysertacji.

Podsumowując rozprawę doktorską Pani lek. Justyny Żółtko-Szydłowskiej pt.: „**Wpływ enoksaparyny na wewnątrznaczyniowe uwalnianie sklerostyny u osób zdrowych**" oceniam pozytywnie, a uzyskane przez Doktorantkę wyniki mogą istotnie przyczynić się do praktycznego wykorzystania w dalszych badaniach nad zapobieganiem działaniom niepożądanym enoksaparyny w hemodializoterapii.

Z całym przekonaniem uważam, że rozprawa doktorska lekarza medycyny **Justyny Żółtko-Szydłowskiej** pt. „**Wpływ enoksaparyny na wewnątrznaczyniowe uwalnianie sklerostyny u osób zdrowych**" wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Jacka Borawskiego spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim. Wnoszę, zatem wniosek do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pani **lek. Justyny Żółtko-Szydłowskiej** do kolejnych etapów przewodu doktorskiego, a Doktorantce życzę dalszych sukcesów naukowych.

Lublin, 10.02.2020.

dr hab. n. med. Tomasz Kocki