

prof.dr hab.n.med. Krystyna Olczyk
Katedra i Zakład Chemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu

Recenzja

rozprawy doktorskiej p.t.: „Znaczenie jakościowego i ilościowego składu lipoprotein ze szczególnym uwzględnieniem roli lipoproteiny(a) w patomechanizmie chorób sercowo-naczyniowych”, wykonanej przez Panią mgr Aleksandrę Krześcińską, pod kierunkiem Promotora Pani dr hab. Agnieszki Agaty Kuchty i Promotora pomocniczego Pani dr hab. Agnieszki Mickiewicz prof. Uczelni.

Dyslipidemia, stanowiąca niejednorodny zespół zaburzeń gospodarki lipidowej, charakteryzujący się nieprawidłowym stężeniem we krwi jednej lub więcej frakcji lipoprotein lub nieprawidłowym ich składem, to niekwestionowany czynnik ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, będących główną przyczyną śmiertelności na świecie. Tegoroczny Kongres Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC), połączony ze Światowym Kongresem Kardiologii, odbywający się w dniach od 29.08. do 01.09. 2025r., w Madrycie, i przebiegający pod hasłem „Global Health - Cardiology Beyond Borders”, podkreślił znaczenie chorób układu krążenia w globalnym kontekście zdrowotnym, przedstawiając jednocześnie pięć nowych wytycznych postępowania diagnostyczno-terapeutycznego, obejmujących m.in. choroby zastawkowe serca, zapalenie osierdza i mięśnia sercowego, lecz także i zaburzenia lipidowe. Wytyczne ESC, odnoszące się do dyslipidemii objęły zalecenia, dotyczące: - szacowania ryzyka sercowo-naczyniowego z wdrożeniem nowych algorytmów SCORE2 i SCORE 2-OP; - suplementów diety; - terapii obniżających stężenie cholesterolu frakcji LDL; - terapii obniżającej stężenie lipidów w trakcie hospitalizacji, z powodu ostrego zespołu wieńcowego, oraz: - lipoproteiny(a) (Lp(a)), jako niezależnego czynnika ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Wykazując właściwości proaterogenne, prozakrzepowe, prozapalne i promujące kalcyfikację naczyń, podwyższone osoczowe stężenie Lp(a) prowadzi do choroby niedokrwiennej serca i zawału tego narządu, do udaru mózgu, choroby tętnic obwodowych czy zwężenia zastawki aortalnej. Jako zatem kolejny „element” w panelu dobrze znanych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego, takich jak podwyższone wartości LDL, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia węglowodanowe (otyłość, cukrzyca), czy palenie tytoniu, Lp(a) stała się elementem profilu lipidowego, z zaleceniem by u każdego dorosłego oznaczyć przynajmniej raz w życiu stężenie tej lipoproteiny.

Tematyka ocenianej rozprawy, korespondująca z przedstawionymi wyżej zagadnieniami, wpisuje się w realizowaną z sukcesem od lat pod kierownictwem Pana prof. dr hab. Macieja Jankowskiego problematykę naukowo-badawczą Zakładu Chemii Klinicznej, Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku. Dlatego też, wybór tematu dysertacji uważam za uzasadniony oraz zgodny z aktualnym stanem wiedzy i kierunkiem współczesnych badań biomedycznych.

Rozprawę doktorską stanowią trzy publikacje eksperymentalne, powiązane tematycznie, wieloautorskie, zamieszczone na łamach prestiżowych, o międzynarodowym zasięgu czasopism, takich jak *Biomedicines*, *International Journal of Molecular Sciences*, i *Journal of Clinical Medicine*,

znajdujących się na tzw. Liście Filadelfijskiej, opublikowane w latach 2022 – 2024. Ich łączny współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 12,7, zaś punktacja ministerialna: 380. Doktorantka jest pierwszym Autorem wszystkich trzech publikacji.

Wymienione wyżej publikacje opatrzone są Opracowaniem, zawierającym *Streszczenie* – w języku polskim i angielskim, oraz kolejne rozdziały, takie jak *Wstęp*, *Cel rozprawy*, *Materiały i metody*, *Wyniki i dyskusja*, *Wnioski*, *Piśmiennictwo*. Opracowanie zawiera ponadto *Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej*, informacje o źródłach *finansowania badań* i o *Zgodzie Komisji Bioetycznej* na przeprowadzenie badań, jak i *Wykaz używanych w Opracowaniu skrótów*.

Rozdział *Streszczenie* wprowadza czytelnika w tematykę pracy doktorskiej, rozwinięcie której zamieszczone jest na kilkunastu stronach rozdziału *Wstęp*, dotycząc informacji na temat chorób sercowo-naczyniowych oraz roli dyslipidemii i lipoproteiny(a) w ich rozwoju, koncentrując się zwłaszcza na budowie, jakościowych modyfikacjach i diagnostyce laboratoryjnej Lp(a), oraz metodach terapeutycznych, obniżających osoczowe stężenie tej lipoproteinowej cząstki. Z treścią powyższego rozdziału dysertacji koresponduje przedstawiony przez Autorkę cel pracy doktorskiej, precyzujący zakres zaplanowanych badań. W dalszej części opracowania znajduje się wyczerpujące omówienie materiałów i metod, obejmujące charakterystykę grup badanych osób, rodzaj ocenianego materiału biologicznego, opis metodyki oznaczania stężenia Lp(a) i innych lipoproteinowych frakcji, opis metody utleniania Lp(a) i frakcji LDL oraz oznaczania aktywności i stężenia autotaksyny, wykaz innych metod i technik analitycznych zastosowanych w dysertacji, jak i krótki opis zastosowanych w pracy metod statystycznych. Uzyskane wyniki oraz ich interpretację zamieściła Doktorantka w obszernym rozdziale *Wyniki i dyskusja*, zaś konkluzje z przeprowadzonych badań zawarła w rozdziale *Wnioski*. Dopelnieniem przedstawionej części dysertacji jest zestawienie 176 pozycji piśmiennictwa, blisko w połowie pochodzących z ostatnich pięciu lat. Wymienione rozdziały dysertacji wprowadzają czytającego do treści załączonych publikacji, będących podstawą rozprawy doktorskiej.

Przedmiotem dysertacji doktorskiej była ilościowa oraz jakościowa ocena lipoproteinowych frakcji, w tym – lipoproteiny(a), pozyskanych z surowicy krwi osób o podwyższonym lub niejednoznacznie określonym ryzyku sercowo-naczyniowym. Dla realizacji założonego celu pracy Doktorantka podjęła szereg zadań badawczych, obejmujących: **1.** określenie stężenia Lp(a) i stężenia oraz aktywności autotaksyny, jako potencjalnych czynników prognostycznych przebiegu stenozы aortalnej u pacjentów z dwupłatkową zastawką aortalną **2.** ocenę wpływu aferezy lipoprotein na podatność oksydacyjną frakcji lipoproteiny(a) oraz frakcji LDL u chorych wysokim stężeniem Lp(a) **3.** Określenie stężenia Lp(a), profilu lipidowego oraz jakościowego składu frakcji HDL u pacjentów z Zespołem Downa, jako grupy niejednoznacznie zdefiniowanej w szacowaniu ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.

Publikacja 1: „Lipoprotein(a) as a potential predictive factor for earlier aortic valve replacement in patients with bicuspid aortic valve”. *Biomedicines*, 2023 r.

Zadaniami badawczymi, przyjętymi do realizacji w zaplanowanym celu pracy były: - ocena stężenia Lp(a) jako potencjalnego czynnika prognostycznego przebiegu stenozы aortalnej (AVS) u pacjentów z dwupłatkową zastawką aortalną (BAV); - ocena aktywności oraz stężenia u pacjentów z BAV autotaksyny (ATX), jako enzymu preferencyjnie transportowanego przez Lp(a) i zaangażowanego w patomechanizm zwapnienia zastawki aortalnej (CAVD); - oznaczenie parametrów profilu

lipidowego oraz stężenia apolipoproteiny A-I (apoA-I) oraz apolipoproteiny B (apoB) u pacjentów z BAV; - oznaczenie u pacjentów z BAV stężenia interleukiny-6 (IL-6) i białka C-reaktywnego (CRP), jako markerów stanu zapalnego.

Przeprowadzone badania wykazały, że u pacjentów z dwupłatkową zastawką aortalną (BAV): - dochodzi do wzrostu stężenia Lp(a), co może być czynnikiem prognostycznym wcześniejszej konieczności wykonania chirurgicznej wymiany zastawki aorty (sAVR); - stężenie i aktywność ATX korelują ze stężeniem Lp(a), co może wskazywać na istotną rolę ATX w patomechanizmie rozwoju chorób sercowo-naczyniowych (CVDs) u osób z wysokim osoczkowym stężeniem Lp(a); - występuje zróżnicowany kierunek ilościowych zmian w zakresie pozostałych badanych parametrów profilu lipidowego, apolipoprotein oraz wskaźników stanu zapalnego, uzależniony od wieku pacjentów, obecności bądź braku stenozы aortalnej, jak i stosowanej farmakoterapii.

Publikacja 2. „Reduced oxidative susceptibility of Lp(a) and LDL fractions as a pleiotropic effect of lipoprotein apheresis in patients with elevated Lp(a) and ASCVDs”. *International Journal of Molecular Science*, 2024 r.

Zadaniami badawczymi, podjętymi zgodnie z zaplanowanym celem pracy były: - ocena wpływu zabiegu aferezy lipoprotein (LA) na jakość cząstek Lp(a) i LDL (ocena podatności na utlenianie obu lipoproteinowych frakcji) u pacjentów z wysokim stężeniem Lp(a), poprzez pomiar kinetyki tworzenia sprzężonych dienów, indukowanych obecnością jonów miedzi(II); - ocena wpływu zabiegu LA na wartości stężeń cząstek Lp(a) i LDL, oraz cholesterolu całkowitego (TC), triglicerydów (TG), cholesterolu nie-HDL (nie-HDL-C), HDL-C, fosfolipidów, ATX, apolipoprotein B, A-I, C-III, E; - ocena wpływu zabiegu LA na stężenie biomarkera stresu oksydacyjnego (8-izo-PGF2α).

Przeprowadzone badania wykazały, że u pacjentów z wysokim stężeniem Lp(a): - LA wywiera wpływ zarówno na stężenie jak i jakość cząstek Lp(a) i LDL, co znajduje swój wyraz nie tylko w obniżeniu ich osoczkowych stężeń, lecz także w ich zmniejszonej podatności na utlenianie, odzwierciedlając złożony, korzystny wpływ LA wobec proaterogennego „wkładu” Lp(a) i LDL w patomechanizm CVDs; - istnieje dodatnia korelacja pomiędzy prooksydacyjnym potencjałem ATX a dynamiką procesu utleniania i stopniem utlenienia cząstek lipoproteinowych, co wskazuje na istnienie potencjalnego narzędzia diagnostycznego w ocenie ryzyka miażdżycowej choroby sercowo-naczyniowej; - procedura LA oddziałuje korzystnie na metabolizm lipoprotein, prowadząc w większości przypadków do jego normalizacji (obniżenie stężenia TC, TG, fosfolipidów, apoB, apo C-III i apo-E), do towarzyszącego niewielkiego obniżenia stężenia HDL-C i ApoA-I, czy braku wyraźnego wpływu na stężenie markera oksydacji (8-izo-PGF2α); - normalizacja badanych parametrów biochemicznych po zastosowanej procedurze LA stanowi przesłankę do rozważenia zwiększenia częstości przeprowadzania tego zabiegu u chorych z hiperlipoproteinemią(a).

Publikacja 3. „Lipid profile, Lp(a) levels and HDL quality in adolescens with Down Syndrome”. *Journal of Clinical Medicine*, 2022 r.

Zadaniami badawczymi, przyjętymi do realizacji w zaplanowanym celu pracy były: - ocena stężenia Lp(a) i parametrów profilu lipidowego, jakościowego składu frakcji HDL (apoA-I, apoA-II) i wskaźników stresu oksydacyjnego (PON-1, TBARS, MPO) u pacjentów z Zespołem Downa (ZD), jako grupy niejednoznacznie zdefiniowanej w szacowaniu ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego (CVD); - ocena wartości współczynnika apoB/apoA-I, jako wskaźnika ryzyka CVD.

Przeprowadzone badania wykazały, że u pacjentów z ZD: - występują zmiany profilu lipidowego, wyrażające się podwyższonym osoczkowym stężeniem zarówno LP(a) jak i LDL-C, nie-HDL-C oraz TG, a jednocześnie – obniżonym stężeniem HDL-C; - dochodzi do przebudowy jakościowej cząstek HDL-C (obniżone stężenie apoA-I, apoA-II, obniżona wartość stosunku apoA-I do apoA-II); - występuje zróżnicowany charakter zmian w zakresie aktywności wskaźników prooksydacyjno –

antyoksydacyjnych (wzrostowi stężenia TBARS towarzyszy brak zmian w aktywności MPO oraz zmian w aktywności PON-1); - wzrasta wartość współczynnika apoB/apoA-I, jako najsilniejszego wskaźnika ryzyka CVD.

Reasumując, omówione wyżej wyniki badań stanowią wyraz zrealizowania założonego celu pracy. Ich merytoryczna wartość i elementy nowości naukowej zostały docenione przez międzynarodowy panel Ekspertów, co znalazło swój wyraz w zamieszczeniu wspomnianych wyników na łamach renomowanych, o międzynarodowym zasięgu, czasopism naukowych. Jako Recenzent niniejszej dysertacji sugerowałabym Pani Doktorantce przygotowanie pracy poglądowej na temat lipoproteiny(a), w której to publikacji, obok aktualnego stanu wiedzy na temat tej szczególnej cząstki, znalazłyby się wzbogacające tę treść, własne wartościowe odkrycia Doktorantki, ważne z poznawczego, ale i potencjalnie aplikacyjnego punktu widzenia.

Z obowiązku Recenzenta zwracam uwagę na pewne niedociągnięcia redakcyjne, które znalazły się w poszczególnych rozdziałach polskojęzycznego Opracowania.

1. Proponuję stosowanie terminu „triglicerydy” zamiast „trójglicerydy”. Choć ta druga nazwa ma historyczne korzenie, to od lat, we wszelkich Wytycznych, sporządzonych przez polskie towarzystwa naukowe (nie wspominając o podręcznikach akademickich, artykułach w czasopismach naukowych, czy wydawnictwach książkowych, przeznaczonych do kształcenia podyplomowego), a dotyczących diagnostyki laboratoryjnej zaburzeń gospodarki lipidowej, stosowana jest terminologia : „triglicerydy” (np. Streszczenie – str.10, Wstęp – str.17)
2. Poprawnym w odniesieniu do lipoprotein jest określenie: „cząstka”, a nie „cząsteczka”. Tymczasem, Doktorantka określeń tych używa zamiennie, dość często, w kolejnych rozdziałach opracowania (np. Wstęp, str.18, 23, 27., Wyniki i dyskusja, str.59, 61,65,66,71)
3. W odniesieniu do związków występujących w płynach ustrojowych stosujemy określenie: „stężenie”, a nie „poziom” czy „zawartość” (np. Wstęp – str.18: poziomy małych gęstych „cząsteczek” LDL, str. 19: poziom HDL-C, str. 23: poziom Lp(a), str. 30: poziom chylomikronów, str. 32: poziom glikowanego LDL, str. 18: zawartość w osoczu wszystkich lipoprotein)
4. Proponuję stosowanie określenia: „utlenione LDL”, zamiast „oksydowane LDL”. To drugie określenie nie jest stosowane w terminologii medycznej (Wstęp, str.19)
5. Proponowałabym określenie: „nadekspresja osteoblastycznych czynników transkrypcyjnych”, zamiast: „regulacja w górę osteoblastycznych czynników transkrypcyjnych” (up-regulation, jakkolwiek jest to tłumaczenie dosłowne) (Wstęp, str. 28)
6. W rozdziale Piśmiennictwo, dwukrotnie zamieszczona jest ta sama publikacja, raz pod numerem 55, a drugi raz pod numerem 59.
7. Rycina nr 1, przedstawiająca budowę lipoproteiny(a), której źródłem wg Doktorantki są „Recommendations of the Experts...” (poz. 59 Piśmiennictwa), zamieszczona jest także w wydanej rok wcześniej, polskojęzycznej wersji wspomnianych „Recommendations of the Experts...” , a ponadto – w opublikowanej dwa lata wcześniej pracy: JAMA Cardiology, 2022,7,7,760 – 769.

Wymienione wyżej uwagi, o charakterze wyłącznie redakcyjnym, zatem nie mające wpływu na wartość merytoryczną recenzowanej pracy, nie umniejszają mojej bardzo wysokiej oceny tej rozprawy.

Proszę też Panią Doktorantkę o przedstawienie własnej opinii na temat nieco różniących się danych, zamieszczonych w „Wytycznych Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej i Polskiego Towarzystwa Lipidologicznego, dotyczących diagnostyki laboratoryjnej zaburzeń gospodarki lipidowej, z 2024 r.”, oraz danych z przytaczanych przez Doktorantkę „Guidelines for the management of dyslipidemias...”, przedstawionych przez European Society of Cardiology oraz European Atherosclerosis Society, z 2025r.

Wg Wytycznych PTDL i PTL z 2024r., wartości pożądane stężenia triglicerydów na czczo to <100 mg/dl (nie na czczo to <125 mg/dl). Wartości pomiędzy 100 – 150 mg/dl (na czczo) określono jako hipertriglicerydemię graniczną. Tymczasem wg Wytycznych ESC i EAS, za optymalne uznano wartości $TG < 150$ mg/dl.

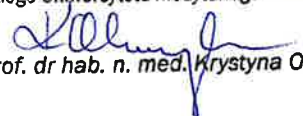
W odniesieniu do wartości nie-HDL-C, to wg Wytycznych PTDL/PTL, wartości pożądane stężenia nie-HDL-C, przy umiarkowanym/małym ryzyku sercowo-naczyniowym wynoszą < 130 mg/dl, zaś wg Wytycznych ESC/EAS, wartością pożądaną stężenia nie-HDL-C, przy niskim ryzyku sercowo-naczyniowym jest stężenie <145 mg/dl. Jak Pani Doktorantka skomentuje te różnice w zalecanych wartościach stężeń obu parametrów profilu lipidowego?

Reasumując stwierdzam, iż praca Pani mgr Aleksandry Krzesińskiej, nosząca tytuł: „Znaczenie jakościowego i ilościowego składu lipoprotein ze szczególnym uwzględnieniem roli lipoproteiny(a) w patomechanizmie chorób sercowo-naczyniowych”, spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim, określone w art.187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2025 r., poz. 1668). Ma charakter zarówno poznawczy jak i aplikacyjny. Świadczy o dużej wiedzy Doktorantki, Jej manualnych umiejętnościach, znajomości nowoczesnych technik laboratoryjnych, oraz – o umiejętności kooperacji z innymi zespołami badawczymi.

Z pełnym więc przekonaniem przedkładam Panu prof. dr hab. Krzysztofowi Całowi – Przewodniczącemu Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, wniosek o dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Krzesińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, uprzejmie przedkładam wniosek o wyróżnienie ocenianej dysertacji. Głównym walorem rozprawy jest jej wartość aplikacyjna, jako opracowania wnoszącego oryginalny i znaczący wkład do współczesnej wiedzy na temat nowych czynników prognostycznych i profili ryzyka sercowo-naczyniowego oraz możliwości wprowadzenia do praktyki klinicznej nowych procedur diagnostycznych i terapeutycznych u chorych z hiperlipoproteinemią(a). Oceniana dysertacja jest dobrze zaplanowanym, starannie wykonanym i oryginalnym opracowaniem naukowym, którego wyniki zamieszczone zostały w formie 3 publikacji – z pierwszym w każdej publikacji autorstwem Doktorantki – w renomowanych czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu oraz wysokim współczynnikiem oddziaływania (łączna wartość IF dla trzech publikacji = 12,7).

PROFESOR BADAWCZO-DYDAKTYCZNY
Katedry i Zakładu Chemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach


prof. dr hab. n. med. Krystyna Olczyk