Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Sosnowiec 26.05.2023 r.

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

Recenzja

rozprawy doktorskiej pt. „Wpływ lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) na katabolizm lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL) zależny od lipazy lipoproteinowej (LPL)", wykonanej przez Panią mgr Ewę Wieczorek-Breitzke, pod kierunkiem Promotora – Pana prof. dr hab. Macieja Jankowskiego oraz Promotora pomocniczego – Pani dr hab. Agnieszki Ćwiklińskiej.

Niniejsza rozprawa doktorska podejmuje ważną z medycznego punktu widzenia kwestę laboratoryjnej diagnostyki zaburzeń lipidowych, tzw. dyslipidemii, stanowiących nadal najbardziej rozpowszechniony czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, będących jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie. Choć powszechnie uważa się, iż u podłoża chorób układu krążenia leży przede wszystkim hipercholesterolemia, to zgodnie z danymi literaturowymi, oraz „Wytycznymi diagnostyki i leczenia zaburzeń lipidowych w Polsce 2021", opracowanymi przez panel Ekspertów 6 polskich towarzystw naukowych (Polskiego Towarzystwa Lipidologicznego - PTL, Kolegium Lekarzy Rodzinnych w Polsce - KLRwP, Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego - PTK, Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego - PTD, Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej - PTDL, Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego - PTNT), to także hipertriglicerydemia (odzwierciedlająca zwiększone osoczowe stężenie lipoprotein bogatych w triglicerydy, tj. lipoprotein o bardzo niskiej gęstości (VLDL) i ich remnanów oraz remnantów chylomikronów (CM)), prowadzi do przewlekłego stanu zapalnego, chorób sercowo - naczyniowych oraz w konsekwencji – do wzrostu umieralności ogólnej. Zgodnie z danymi, dotyczącymi epidemiologii zaburzeń lipidowych w Polsce, hipertriglicerydemia występuje u 30% osób z różnymi postaciami dyslipidemii. Choć wiadomo, iż upośledzenie metabolizmu lipoprotein o bardzo niskiej gęstości (VLDL) stanowi jedno z ogniw patomechanizmu wymienionej postaci lipidowych zaburzeń, to nie w pełni poznany jest wpływ czynników, kształtujących – jak pisze Doktorantka – efektywność poszczególnych etapów przemian wspomnianej lipoproteinowej frakcji, a tym samym – determinujących zaburzenie bądź utrzymanie lipidowej homeostazy.

Powyższemu zagadnieniu poświęcona jest przedstawiona do oceny praca doktorska, dlatego też wybór jej tematu, będącego rozwinięciem wyżej przedstawionej problematyki badawczej, uważam za uzasadniony i niezwykle ważny z punktu widzenia zarówno poznawczego jak i potencjalnie farmakoterapeutycznego.

Ocenianą rozprawę doktorską stanowią trzy, powiązane tematycznie publikacje, dwie oryginalne i jedna poglądowa, zamieszczone na łamach prestiżowych, o międzynarodowym zasięgu czasopism, takich jak *Nutrients (IF* = 6,706; *pkt. MEiN = 140), Biomedicines (IF* = 4, 757; *pkt. MEiN = 100) oraz Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IF* = 8,490; *pkt. MEiN = 100).* Doktorantka jest pierwszym Autorem tych prac.

Wykaz publikacji znajduje się na początku Opracowania, którym opatrzone są – zamieszczone w dysertacji – kopie wymienionych trzech prac. Zawarty w Opracowaniu – w dalszej kolejności – *Wykaz stosowanych skrótów* znacząco ułatwia lekturę polskojęzycznego Opracowania. Na Opracowanie to składają się ponadto: *Streszczenie* – w języku polskimi angielskim; - *Wprowadzenie* do *Części teoretycznej pracy* (wzbogaconej w dwie tabele i dwie ryciny) – przedstawiającej w syntetyczny sposób najnowsze dane z piśmiennictwa na temat charakterystyki lipoprotein osocza, ich pochodzenia, metabolizmu i roli biologicznej, w oparciu o które Doktorantka przekonująco uzasadniła cel swoich badań; - *Cel rozprawy doktorskiej* – precyzujący istotę zaplanowanych zadań badawczych; - *Część doświadczalna* – zawierająca szczegółowy opis zastosowanych metod badawczych i przebiegu prowadzonego eksperymentu, wzbogacona o dwa schematy, dwie tabele, sześć rycin, i kończąca się opisem zastosowanych w pracy metod analizy statystycznej; - *Wyniki badań* – zawierające zwięzłe zestawienie, opisanych w dwóch oryginalnych publikacjach, efektów dociekań naukowych, a w przypadku publikacji poglądowej – prezentujące informacje na temat patomechanizmu hipertriglicerydemii, zaburzeń metabolizmu lipoproteinowych cząstek bogatych w triglicerydy (TRL) i ich roli w rozwoju miażdżycy, oraz – informacje na temat wskaźników laboratoryjnych przydatnych w diagnostyce hipertrigicerydemii ; - *Podsumowanie wyników* i *Wnioski* – korespondujące z nakreślonymi wcześniej zadaniami badawczymi i potwierdzające zasadność wybranego celu pracy. Zakończeniem polskojęzycznego Opracowania jest *Bibliografia,* oparta na źródłach literaturowych, dotyczących zagadnień omówionych we wcześniej wymienionych rozdziałach Opracowania. Rozdziały te, towarzyszące trzem publikacjom, stanowiącym istotę pracy doktorskiej, pozwalają na wdrożenie się czytającego zarówno do tematyki dysertacji jak i do przedstawionej w pracach oryginalnych problematyki doświadczeń, opartych na nowoczesnym i różnorodnym warsztacie analitycznym, który w swej złożoności umożliwił realizację zamierzeń badawczych.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż oceniana rozprawa doktorska została zrealizowana dzięki wsparciu finansowemu, zapewnionemu przez Grant NCN, pn. *Preludium,* którego Doktorantka była Kierownikiem oraz Grant NCBiR, dedykowany Uczestnikom Studiów Doktoranckich.

Przedmiotem prac oryginalnych, stanowiących część eksperymentalną dysertacji doktorskiej, było określenie wpływu lipoprotein o wysokiej gęstości – HDL, na efektywność katabolizmu frakcji lipoprotein o bardzo niskiej gęstości – VLDL, zależnego od aktywności lipazy lipoproteinowej (LPL). Dla realizacji nadrzędnego celu pracy Doktorantka zaplanowała zadania badawcze, na wykonanie których uzyskała zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym, a obejmujące: **1**. ocenę wpływu HDL na efektywność katabolizmu VLDL, pozyskanych od osób z prawidłowym profilem lipidowym bądź osób z hipercholesterolemią czy hiperlipidemią mieszaną; **2**. ocenę wpływu subpopulacji HDL, tj. HDL-2 i HDL-3 na efektywność osoczowych przemian VLDL.

Doktorantka wykazała, iż: - lipoliza kluczowych dla rozwoju hipertriglicerydemii VLDL jest upośledzona u osób z zaburzeniami lipidowymi, zarówno u tych z izolowaną hipercholesterolemią, jak i u tych z hiperlipidemią mieszaną; - frakcja HDL nasila efektywność lipolizy VLDL u chorych z wymienionymi rodzajami dyslipidemii, które to korzystne zjawisko może – zdaniem Doktorantki – ulegać upośledzeniu w przypadku dysfunkcjonalnych HDL. Odkrycia te pozwoliły Doktorantce także na wysunięcie hipotezy, iż obniżenie podatności VLDL na lipolizę u osób z hiercholesterolemią wpływa niekorzystnie na przemiany tej bogatej w triglicerydy frakcji lipoproteinowej, co może stanowić dodatkowy czynnik ryzyka rozwoju hipertrigicerydemii, prowadzącej do chorób sercowo- naczyniowych i ich – zagrażających życiu – następstw. Ponadto,

jak wskazuje podsumowująca pierwszą oryginalną publikację konkluzja z przeprowadzonych badań, dostarczają one dodatkowego dowodu na potrzebę jak najszybszej implementacji terapii hipolipemizującej u osób – jeszcze bez chorób sercowo-naczyniowych, lecz już z zaburzeniami lipidowymi. Konkluzja ta wpisuje się w rekomendacje PTL, KLRwP, PTK, PTD, PTDL, PTNT, zgodnie z którymi najważniejszym parametrem profilu lipidowego jest stężenie LDL-C, obniżanie którego jest podstawowym (pierwszorzędowym) celem leczenia hipolipemizującego, a które prowadzone być powinno zgodnie z regułami: - *the lower the better;* - ***the earlier the better;*** i - *the longer the better.*

W swojej dysertacji Doktorantka wykazała ponadto (publikacja oryginalna 2.), iż : - obydwie subpopulacje HDL (HDL-2 i HDL-3) z jednakowym nasileniem wzmagają efektywność lipolizy triglicerydów frakcji VLDL, zwiększając także uwalnianie powierzchniowych składników tej frakcji podczas jej lipolizy, z większym jednak udziałem HDL-3; - zmiany w składzie i/lub ilości cząstek HDL mogą wpływać na zmniejszenie efektywności katabolizmu cząstek VLDL oraz na skład i właściwości cząstek resztkowych VLDL, co może prowadzić do wzrostu ryzyka rozwoju hipertriglicerydemii, po czym – rozwoju miażdżycy.

Przeprowadzone badania pozwoliły Doktorantce na zrealizowanie założonego celu pracy. Wyrazem nowatorskiego charakteru i naukowej wartości tych badań było opublikowanie ich wyników w prestiżowych, z tzw. listy filadelfijskiej czasopismach, poprzedzone szczegółową oceną międzynarodowego zespołu Recenzentów.

Lektura pracy nasunęła pewne uwagi, dotyczące polskojęzycznego Opracowania, które poniżej przedstawiam:

1. w tekście CZĘŚCI TEORETYCZNEJ, przy rycinie 2. nie zamieszczono informacji o źródle jej pochodzenia (tak jak uczyniono to w przypadku ryciny 1.). Czy jest to rycina autorstwa Doktorantki, na co wydaje się wskazywać pewne podobieństwo do ryciny zamieszczonej w publikacji poglądowej, wchodzącej w skład dysertacji? Ponadto, przywołana rycina 2. zawiera pewne nieścisłości, takie jak: - brak zaznaczonego receptora LRP obok LDLR na powierzchni hepatocytów, a przecież remnanty VLDL i CM są pobierane przez oba rodzaje receptorów (co Doktorantka uwzględniła na rycinie w publikacji nr 3); - czy na osi remnanty VLDL→ LDL działa białko przenoszące estry cholesterolu (CETP), podobnie jak białko przenoszące fosfolipidy (PLTP), co wynika z ryciny 2.? ; - nie zaznaczono roli CETP w interakcji HDL→ bogate w triglicerydy lipoproteiny osocza, podobnie jak nie zaznaczono roli PLTP w interakcji lipoprotein bogatych w TG z HDL (choć informacje te zawarła Autorka dysertacji w poprzedzającym rycinę tekście). Wydaje się także, że niektóre skróty biochemiczne dobrze przyjęły się w polskojęzycznym piśmiennictwie, takie jak np. WKT (wolne kwasy tłuszczowe), zatem jednoczesne stosowanie skrótów anglojęzycznych (jak np. FFA) (w tabelach i na rycinie), obok polskojęzycznych określeń, można zastąpić dla ujednolicenia języka skrótami polskojęzycznymi.
2. w tekście CZĘŚCI TEORETYCZNEJ, pkt.2.2. (str.17.) mowa jest o „receptorach dla LDL na hepatocytach (LDLR i LRP), tymczasem LDL pobierane są wyłącznie przez receptor LDLR (oraz tzw. receptory zmiatające – w szczególnych przypadkach).
3. w tekście CZĘŚCI DOŚWIADCZALNEJ, pkt. 4.1.1. Grupa badana, znalazły się określenia, takie jak: - leki „sterydowe" – powinno być : leki „steroidowe"; „ciężar" ciała, powinno być : „masa" ciała

Powyższe uwagi mają charakter redakcyjny, nie wpływają zatem na merytoryczną wartość pracy, którą oceniam bardzo wysoko. Dysertacja ta bowiem świadczy o dużej wiedzy Doktorantki, znajomości nowoczesnych, złożonych technik badawczych i umiejętności ich wykorzystania w pracy laboratoryjnej, lecz także – o umiejętności współpracy z innymi podmiotami. Nie bez znaczenia pozostaje ponadto umiejętność pozyskiwania funduszy na prowadzenie skomplikowanych i kosztochłonnych badań biochemicznych.

Reasumując stwierdzam, iż praca Pani mgr Ewy Wieczorek-Breitzke, nosząca tytuł: „Wpływ lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) na katabolizm lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL) zależny od lipazy lipoproteinowej (LPL)", w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim, spełniając warunki określone w art.187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 r., poz. 574). Ma charakter zarówno poznawczy jak i aplikacyjny. Poszerza bowiem wiedzę o regulacji złożonych, ciągle nie w pełni poznanych etapach transformacji osoczowych lipoprotein i ich roli w homeostazie lipidowej, lecz także i o potencjalnym ich „wkładzie" w rozwój chorób sercowo-naczyniowych. Wyrazem zaś aplikacyjnego znaczenia ocenianej dysertacji są przedstawione w niej, dodatkowe dowody na potrzebę pilnej implementacji terapii hipolipemizującej u osób z zaburzeniami sercowo-naczyniowymi, już na wczesnych etapach rozwijającej się dyslipidemii.

Z pełnym więc przekonaniem przedkładam Panu prof. dr hab. Wiesławowi Sawickiemu, Przewodniczącemu Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, wniosek o dopuszczenie Pani mgr Ewy Wieczorek-Breitzke do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, zważywszy wysoką naukową wartość dysertacji, opartej na wieloprofilowym, złożonym warsztacie laboratoryjnym, obejmującym nowoczesne techniki badawcze, oraz – będącej dobrze zaplanowanym i przeprowadzonym, opartym na rzetelnej analizie piśmiennictwa opracowaniem naukowym, wnoszącym oryginalny i znaczący wkład do współczesnej wiedzy na temat diagnostyki laboratoryjnej dyslipidemii, a ponadto – współfinansowanym przez Narodowe Centrum Nauki i Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, oraz opublikowanym w renomowanych czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu i wysokim współczynniku oddziaływania (łączna wartość IF dla trzech publikacji = 19,953, pkt. MEiN = 340), uprzejmie przedkładam wniosek o wyróżnienie ocenianej dysertacji.

prof. dr hab.n.med. Krystyna Olczyk