

**Recenzja rozprawy doktorskiej lekarza Damiana Gajeckiego „Poszukiwanie mechanizmów regulacji biodostępności tlenu azotu w erytrocytach i ich wpływ na funkcję śródbłonka naczyniowego u osób z cukrzycą typu 2”**

Choroby układu sercowo-naczyniowego pozostają główną przyczyną zgonów w Polsce. Oprócz klasycznych czynników ryzyka – nadciśnienia tętniczego, zaburzeń lipidowych i palenia tytoniu, coraz większą rolę w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego przypisuje się zaburzeniom węglowodanowym, a zwłaszcza cukrzycy. Uważa się, że w momencie rozpoznania cukrzycy, ryzyko sercowo-naczyniowe jest co najmniej wysokie, a nieodpowiednia kontrola glikemii u chorych z cukrzycą związana jest z szybkim rozwojem chorób układu sercowo-naczyniowego na podłożu miażdżycy, w tym wystąpienia zawału serca i niewydolności serca.

Badania prowadzone na przestrzeni ostatnich lat wskazują, że związek pomiędzy zaburzeniami metabolizmu glukozy a ryzykiem sercowo-naczyniowym obecny jest już na wczesnych etapach rozwoju tych zaburzeń. Relacja pomiędzy odsetkiem hemoglobiny glikowanej a ryzykiem sercowo-naczyniowym ma charakter liniowy i zaczyna się od tak niskich wartości jak wartości poniżej 5%.

Zaburzenia funkcji śródbłonka stanowią nie tylko pierwszy etap rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego, ale także proces patofizjologiczny który prowadzi do progresji tych chorób i wystąpienia ich najgroźniejszych powikłań takich jak zawał serca czy udar mózgu. Z tych powodów badania nad procesami prowadzącymi do zaburzeń funkcji śródbłonka są ważne nie tylko ze względów poznawczych, ale także z uwagi na możliwość przeniesienia ich do praktyki klinicznej.

Należy podkreślić, że w ostatnim okresie zwraca się uwagę na istotną interakcję zaburzeń metabolicznych, stanu zapalnego i zaburzeń funkcji śródbłonka. Uważa się, że procesy te prowadzą nie tylko do uszkodzenia ściany naczynia związanego z powstaniem i progresją zmian miażdżycowych, ale odgrywają także rolę w rozwoju niewydolności serca z zachowaną frakcją wyrzutową – nadchodzącej pandemii następnych dekad.

Interakcja zaburzeń metabolicznych, stanu zapalnego i zaburzeń funkcji śródbłonna może ponadto mieć nie tylko znaczenie u chorych z cukrzycą w inicjacji procesu miażdżycowego, ale również w rozwoju tzw. blaszek ranliwych, pękania blaszek i występowaniu zdarzeń sercowych lub naczyniowo-mózgowych.

Wobec tak aktualnej tematyki jaką w szerokim pojęciu stanowi związek pomiędzy funkcją śródbłonna a cukrzycą, badania przeprowadzone przez lekarza Damiana Gajeckiego interesująco wpisują się w dotychczasowe opracowania w tej dziedzinie i posiadają znaczenie poznawcze. Należy podkreślić, że badania zostały przeprowadzone pod kierunkiem wybitnego badacza w zakresie patofizjologii chorób układu sercowo-naczyniowego prof. dr hab. n. med. Adriana Doroszki, a także pod kierunkiem dr n. med. Anny Szymańskiej-Chabowskiej w uznanym ośrodku naukowym prowadzącym szeroko zakrojone badania naukowe dotyczące patofizjologii, diagnostyki i leczenia chorób serca – Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

Lekarz Damian Gajecki jako główny cel badań będących przedmiotem pracy doktorskiej założył poszukiwanie osi biotransformacji tlenu azotu, a także ocenę poszczególnych jej elementów wewnątrz erytrocytów u pacjentów, którzy rozwinęli cukrzycę typu 2, ale nie są jeszcze obecne u nich istotne klinicznie powikłania mikro- i makronaczyniowe. Kolejnymi celami było powiązanie tych procesów z wybranymi aspektami funkcji śródbłonna naczyniowego oraz przedstawienie roli erytrocytów w regulacji biodostępności tlenu azotu. Uzasadnieniem podjęcia projektu są badania wskazujące na funkcję krwinek czerwonych jako regulatorów przepływu w mikrokrążeniu, zwłaszcza w obszarach o zmniejszonej dostępności tlenu, w której istotną rolę odgrywa regulacja dostępności tlenu azotu.

Rozprawa doktorska lekarza Damiana Gajeckiego ma formę spójnego tematycznie zbioru dwóch publikacji – jednej oryginalnej i jednej pogłądowej - ogłoszonych w międzynarodowych, recenzowanych czasopismach naukowych. W obu artykułach Doktorant jest pierwszym autorem. Należy podkreślić, że łączna punktacja publikacji włączonych do rozprawy doktorskiej - współczynnik oddziaływania Impact Factor – wynosi 12,032.

Rozprawa doktorska lekarza Damiana Gajeckiego liczy 59 stron i ma układ klasyczny dla prac doktorskich w formie cyklu publikacji. Składa się ze: spisu treści, wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską, omówienia prac składających się na rozprawę doktorską wraz z wnioskami, kopii publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, oświadczeń

współautorów dotyczących udziału w przygotowaniu publikacji stanowiących rozprawę doktorską, oraz streszczeń w języku polskim i angielskim. Całość zamyka kopia zgody komisji bioetycznej.

Rozprawa napisana jest jasno, pod względem redakcyjnym nie budzi zastrzeżeń, a proporcje pomiędzy poszczególnymi częściami są odpowiednio zachowane.

Uzyskane wyniki oraz dyskusja zostały zawarte w przykładowie napisanych publikacjach, które składają się na rozprawę doktorską lekarza Damiana Gajeckiego.

Pierwszą z prac: „Role of erythrocytes in nitric oxide metabolism and paracrine regulation of endothelial function” opublikowano w *Antioxidants* w 2022 roku. Jest to praca poglądowa, którą Doktorant oparł na skrupulatnym przeglądzie literatury – praca oparta jest na znaczącej liczbie – 107 - publikacji. W omawianym przeglądzie Doktorant skupił się na roli krwinek czerwonych w metabolizmie tlenu azotu i parakrynej regulacji funkcji śródbłonka. Doktorant przedstawił w pracy złożoną regulację translokacji aminokwasów przez błonę krwinek czerwonych, ze szczególnym uwzględnieniem transporterów aminokwasów kationowych odpowiedzialnych za transport substratów i pochodnych tlenu azotu. Interesującą częścią opracowania jest opis wewnątrzerytrocytarnego metabolizmu L-argininy z jego regulacją przez reaktywne formy tlenu i aktywność arginazy. Doktorant podkreśla, że proces obrotu azotynami i azotanami jest kolejnym stabilnym źródłem tlenu azotu, z jego redukcją przez oksydoreduktazę ksantynową lub hemoglobinę. Doktorant omówił także dodatkową funkcję hemoglobiny w syntezie tlenu azotu i jego późniejszej stabilizacji w intermediatach. Ponadto podkreślił, że krwinki czerwone regulują tonus naczyniowy poprzez uwalnianie ATP, indukowanie rozkurczu komórek mięśni gładkich i zmniejszanie agregacji płytek krwi. W jednej z ostatnich części opracowania doktorant uwypuklił, że erytrocyty i wewnątrzerytrocytarny metabolizm tlenu azotu są również odpowiedzialne za utrzymanie normotensji. Krytyczna analiza literatury pozwoliła Doktorantowi podsumować, że krwinki czerwone stają się nowym, obiecującym celem terapeutycznym w przywracaniu homeostazy tlenu azotu w zaburzeniach sercowo-naczyniowych.

Druga praca z cyklu „A cross-talk between the erythrocyte L-arginine/ADMA/nitric oxide metabolic pathway and the endothelial function in subjects with type 2 diabetes mellitus” została opublikowana w 2021 roku w *Nutrients*. Ocenie poddano 35 pacjentów z cukrzycą oraz 45 zdrowych ochotników. Funkcja śródbłonka była oceniana w odpowiedzi na różne bodźce.

W grupie pacjentów z cukrzycą, Doktorant stwierdził obniżone stężenie argininy i cytruliny w osoczu oraz zmniejszone ilorazy stężenia argininy/ADMA i ADMA/DMA. Wykazał także zachowany metabolizm tlenu azotu w erytrocytach z obniżonym poziomem cytruliny i istotnie wyższą biodostępnością tlenu azotu. W kolejnych obserwacjach Doktorant wykazał istotną dysfunkcję śródbłonna u osób z cukrzycą w odpowiedzi na bodźce cieplne.

Doktorant przedstawił w publikacjach uzyskane wyniki w sposób przejrzysty. Artykuły wzbogacone są tabelami i rycinami ułatwiającymi czytelnikowi zrozumienie omawianych zagadnień i uzyskanych wyników. Analizy statystyczne zostały wykonane poprawnie, co podnosi wartość publikacji. Dyskusja w artykule oryginalnym napisana jest w sposób logiczny i merytorycznie poprawnie. Doktorant celnie porównuje uzyskane przez siebie wyniki z danymi z literatury. Doktoranta cechuje krytyczne podejście do przeprowadzonych badań, co świadczy o jego dojrzałości naukowej.

Uzyskane wyniki pozwoliły Doktorantowi na ich podsumowanie, a następnie wysunięcie najważniejszych wniosków:

- Pacjenci z cukrzycą i osoby zdrowej charakteryzują się różnicami w stężeniach metabolitów osi przemian tlenu azotu, dotyczącymi głównie osocza. Metabolizm tlenu azotu pozostaje natomiast w dużej mierze nienaruszony w erytrocytach pacjentów z cukrzycą typu 2. W związku z tym u pacjentów z cukrzycą biodostępność tlenu azotu jest istotnie wyższa wewnątrz krwinek czerwonych.
- Przeprowadzone badania mogą translacyjnie nieść za sobą istotne implikacje kliniczne, bowiem poznanie dokładnych molekularnych aspektów przemian tlenu azotu w erytrocytach może pozwolić na opracowanie inhibitorów arginazy, leków przeciwdziałających rozprzęganiu NOS lub redukujących stres oksydacyjny.
- Zastosowanie przepływomierza laserowego wraz z oceną odpowiedzi na bodziec termiczny może być istotnym narzędziem w ocenie wczesnych powikłań cukrzycy, pozwalając na bardziej dokładną ocenę ryzyka sercowo-naczyniowego, wyodrębnienie chorych charakteryzujących się wyższym ryzykiem i formułowanie spersonalizowanych zaleceń terapeutycznych.

Po zapoznaniu się z pracą doktorską należy - niezależnie od podkreślenia bardzo wysokich jej walorów poznawczych - odnotować kilka faktów i szerzej je skomentować. Do niewątpliwych osiągnięć Doktoranta - nadających rozprawie oryginalność - należy podjęcie

badań na zagadnieniu ważnym z klinicznego punktu widzenia, którego patofizjologia nie jest jednoznacznie wyjaśniona. Tematyka będąca przedmiotem pracy doktorskiej pozwoliła na uzyskanie wysoce oryginalnych wyników i co ważne - kolejne badania były wynikiem realizacji dobrze zaplanowanych protokołów oraz uważnej analizy uzyskiwanych wyników.

Prace stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej nie są wolne od pewnych ograniczeń wynikających między innymi z samej natury, złożonej patogenezy i obrazu klinicznego cukrzycy - pragnę w tym miejscu nadmienić, że w Doktorant przedstawia w sposób wyczerpujący ograniczenia prowadzonych przez niego badań.

Jedynie z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć, że przedłożona praca mogłaby być uzupełniona o wykaz skrótów, ułatwiłoby to zapoznanie się czytelnikowi z omawianymi zagadnieniami. Lektura publikacji wchodzących w skład cyklu nasunęła mi również pytanie, będące również propozycją kontynuacji badań – czy obserwowano związek pomiędzy odsetkiem hemoglobiny glikowanej A1C zarówno w grupie pacjentów z cukrzycą jak i w całej analizowanej grupie (traktując zaburzenia węglowodanowe jako continuum, a hemoglobinę glikowaną A1C za marker ich liniowego charakteru)?

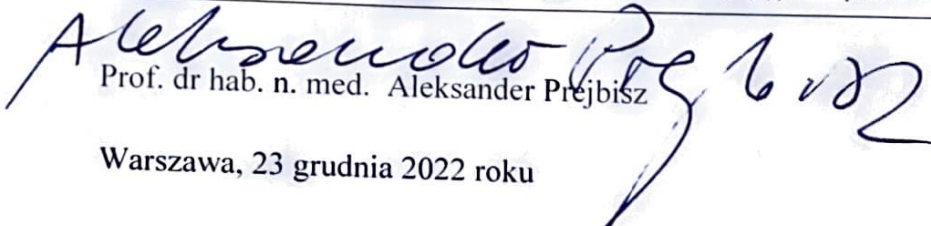
Chciałbym podkreślić, że powyższe uwagi wynikają z dociekliwości naukowej recenzenta, dla którego publikacje będące przedmiotem cyklu stanowią niezwykle interesujący substrat do rozważań i analiz. Nie wpływają w żaden sposób na fakt, że przedstawioną do recenzji rozprawę uważam za znakomitą pracę doktorską.

Wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lekarza Damiana Gajeckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy. Wniosek o wyróżnienie motywuję wysoką jakością przeprowadzonych badań naukowych co wskazuje na biegłe opanowanie przez Doktoranta warsztatu pracy naukowej. Ponadto wyniki badań zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach naukowych o wysokim IF.

Rozprawa doktorska spełnia wszystkie warunki określone w art.13 ust. 1 ustawy z dnia 13 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.).

Recenzja rozprawy doktorskiej lekarza Damiana Gajeckiego „Poszukiwanie mechanizmów regulacji biodostępności tlenu azotu w erytrocytach i ich wpływ na funkcję śródbłonna naczyniowego u osób z cukrzycą typu 2” – prof. dr hab. n. med. Aleksander Prejbisz

---

  
Prof. dr hab. n. med. Aleksander Prejbisz

Warszawa, 23 grudnia 2022 roku