

Dr hab. n. med. Michał Hawranek
Kierownik Pracowni Hemodynamiki
III Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze,
Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice, Polska
Śląskie Centrum Chorób Serca
Skłodowskiej-Curie 9, 41-800 Zabrze

Uniw. Medyczny we Wrocławiu EKOLOGIA DYSCIPLINY NAPISYWAJĄCY	
wpl. dnia	28-02-2023
L. dz. RN	269

Zabrze, 18.02.2023

V101:
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCIPLINY NAUKI MEDYCZNEJ
Przewodniczący
prof. dr hab. Agnieszka Hałóń

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lekarza Radosława Koniecznego

zatytułowanej

„Wpływ uszkodzenia bariery jelitowej, mierzonego poziomem cytruliny i poziomu N-tlenku trimetyloaminy w surowicy na rokowanie u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi”

UWAGI WSTĘPNE

Przedstawiona praca doktorska pt. „Wpływ uszkodzenia bariery jelitowej, mierzonego poziomem cytruliny i poziomu N-tlenku trimetyloaminy w surowicy na rokowanie u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi” została przygotowana przez lek. Radosława Koniecznego pod opieką naukową dr. hab. n. med. Wiktora Kulickowskiego Kliniki Kardiologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Według Światowej Organizacji Zdrowia (ang. WHO-World Health Organization), choroby sercowo-naczyniowe (CVD) pozostają główną przyczyną śmierci i niepełnosprawności na całym świecie. Dzięki rozwojowi metabolomiki i metagenomiki, mikrobiota jelitowa coraz częściej jest wskazywana jako modulator przebiegu CVD. Aktywność mikrobioty jelitowej prowadzi do powstania cząsteczek, które po wchłonięciu z jelita uczestniczą bezpośrednio lub pośrednio w patogenezie CVD. Przykładem takiej cząsteczki jest n-tlenek trimetyloaminy (TMAO).

TMAO powstaje w ludzkim organizmie na drodze enzymatycznego utlenienia metabolitu mikrobioty jelitowej – trimetyloaminy (TMA). Jest także wchłaniany bezpośrednio z pokarmu. Udział TMAO w procesie aterogenezy, indukcji stresu oksydacyjnego, nadreaktywności płytek krwi czy włóknieniu i remodelingu mięśnia sercowego znajduje odzwierciedlenie w badaniach populacji pacjentów obciążonych chorobami układu krążenia. Wykazano w nich, że wyższe stężenie TMAO w surowicy zwiększa ryzyko zgonu i innych niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych w przebiegu choroby wieńcowej, niewydolności serca oraz częstości powikłań migotania przedsionków. Postuluje się, że parametry bariery jelitowej mogą być czynnikiem istotnie

wpływającym na wchłanianie tej cząsteczki i jej prekursorów. Z tego powodu przepuszczalność bariery jelitowej powinna być uwzględniana w całościowej ocenie ryzyka związanego z podwyższonym stężeniem TMAO w surowicy. Dane dotyczące procesu wchłaniania TMAO oraz TMA, z przewodu pokarmowego są ograniczone. Analizy tego typu, w kontekście CVD przeprowadzono dotychczas głównie na modelu zwierzęcym. Dopiero w marcu 2022 roku opublikowano badanie przeprowadzone na małej (n=29) grupie pacjentów ze zdekompensowaną niewydolnością serca, w którym analizowano korelację stężenia TMAO z parametrami bariery jelitowej [16]. W badaniu tym wykazano brak istotnej korelacji stężenia TMAO z przepuszczalnością bariery jelitowej.

Chorobom układu krążenia towarzyszy uszkodzenie bariery jelitowej i utrata jej funkcji ochronnej. Pierwsze badania na ten temat dotyczyły uszkodzenia bariery jelitowej w przewlekłej niewydolności serca. Wykazano także związek uszkodzenia bariery jelitowej z chorobą wieńcową, zawałem mięśnia sercowego oraz nadciśnieniem tętniczym. Powstaje tzw. błędne koło, w którym choroba układu krążenia powoduje uszkodzenie bariery jelitowej i szybsze przenikanie czynników powodujących progresję zmian w sercu oraz naczyniach krwionośnych.

Cytrulina jest aminokwasem syntetyzowanym prawie wyłącznie przez enterocyty środkowej i szczytowej części kosmków proksymalnego odcinka jelita cienkiego. Oznaczenie stężenia cytruliny w surowicy pozwala w sposób pośredni ocenić masę czynnych metabolicznie enterocytów. Jego spadek świadczy o uszkodzeniu bariery jelitowej. Potwierdzono przydatność cytruliny jako biomarkera niedokrwienia jelita u pacjentów z niedrożnością tętnicy kręzkowej oraz markera utraty nabłonka jelitowego po śródzabiegowej okluzji naczyń jelita cienkiego. U pacjentów w stanie krytycznym, obniżony poziom cytruliny może świadczyć o uszkodzeniu bariery jelitowej i jest w tej grupie niezależnym czynnikiem rokowniczym zgonu.

Markery rokownicze w przebiegu chorób układu krążenia to jedna z ważniejszych obecnie dziedzin badawczych. Określenie nowych czynników, które pozwolą na stratyfikację ryzyka a tym samym określenie populacji pacjentów narażonych na wystąpienie niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych jest jedną z podstaw medycyny spersonalizowanej. Podjęty przez Doktoranta temat ma duże znaczenie kliniczne zwłaszcza w kontekście niewielkiej ilości opublikowanych do tej pory danych.

OCENA FORMALNA

Praca doktorska ma postać 85-stronicowej monografii, włączając w to streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografię. Praca została podzielona na dziewięć rozdziałów i ma typowy układ dla oryginalnych prac badawczych z wyraźnym podziałem na wstęp, cele, metodykę i materiał badawczy, wyniki, dyskusję, wnioski. Rozprawa została oparta o cykl trzech spójnych tematycznie artykułów – dwóch oryginalnych i jednego komentarza. W skład cyklu wchodzi trzy artykuły opublikowane w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania:

1. **Konieczny, R. A.**, Kuliczkowski, W. (2022). Trimethylamine N-oxide in cardiovascular disease. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 31(8), 913–925. (IF 1.736, MEiN 70)
2. **Konieczny, R. A.**, Żurawska-Płaksej, E., Kaaz, K., Czapor- Irzabek, H., Bombała, W., Mysiak, A., & Kuliczkowski, W. (2022). All-Cause Mortality and Trimethylamine N-Oxide Levels in Patients with Cardiovascular Disease. *Cardiology*, 147(4), 443–452. (If 2.342, MEiN 40)
3. **Konieczny, R. A.**, Żurawska-Płaksej, E., Kaaz, K., Czapor- Irzabek, H., Bombała, W., Mysiak, A., & Kuliczkowski, W. (2022). Citrulline and long-term mortality in patients with cardiovascular disease. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 31(10), 1121–1128. (IF 1.736, MEiN 70)

Łączny IF dla prac włączonych do cyklu wynosi 5,814 a punktacja MNiSW wynosi 180 punktów. Nie podano procentowego wkładu doktoranta w poszczególne prace. Rozprawa zawiera 6 tabel, 3 wykresy oraz 3 ryciny. Doktorant zebrał pełne, wartościowe i aktualne piśmiennictwo – łącznie 33 pozycje. Większość pozycji piśmiennictwa cytowanych przez Doktoranta zostało opublikowanych w czasopismach anglojęzycznych o wysokim wskaźniku oddziaływania. O znaczeniu i aktualności tematu podjętego przez Doktoranta wskazuje fakt, że wiele pozycji piśmiennictwa pochodzi z ostatnich pięciu lat.

WSTĘP

Zawiera 4 strony, na których Doktorant w sposób syntetyczny opisuje przesłanki patofizjologiczne oraz obecny stan wiedzy dotyczący roli mikrobioty jelitowej (analizowane cząsteczki do n-tlenek trimetyloaminy oraz cytrulina) w kontekście chorób układu krążenia. Wstęp jest syntetyczny, wskazuje na dobre przygotowanie merytoryczne Doktoranta, zorientowanie w przedmiocie tematu oraz umiejętność krytycznej analizy wyników literaturowych, co prowadzi w logiczny sposób do przedłożenia założeń i celów badania. Wstęp zawiera dodatkowo starannie opracowane ryciny ilustrujące rolę TMAO w schorzeniach układu krążenia. Jako, że ryciny pochodzą z pierwszej pracy cyklu warto dodać w opisie rycin ich źródło.

ZAŁOŻENIE I CELE PRACY

Cele pracy zostały przedstawione zwięźle, wynikają ze wstępu oraz przesłanek do przeprowadzonych badań.

1. Ocena przydatności klinicznej stężenia TMAO jako niezależnego czynnika rokowniczego u polskich pacjentów obciążonych chorobami układu krążenia w obserwacji długoterminowej.
2. Ocena przydatności klinicznej stężenia cytruliny jako niezależnego czynnika rokowniczego u pacjentów obciążonych chorobami układu krążenia w obserwacji długoterminowej.

3. Ocena wzajemnego powiązania stężenia TMAO i uszkodzenia bariery jelitowej ocenionego stężeniem cytruliny. Zbadanie takiej korelacji pozwoli lepiej zrozumieć wzajemny wpływ tych czynników na rokowanie pacjentów z chorobami układu krążenia.

Uważam, że hipotezy badawcze oraz cele pracy są poprawnie sformułowane. Z uwagi na relatywnie niewielką liczbę opublikowanych badań obserwacyjnych w tym obszarze praca Doktoranta stanowi istotne uzupełnienie aktualnego stanu wiedzy. Zrealizowanie założonego planu badania może przełożyć się na praktykę kliniczną poprzez określenie roli nowych biomarkerów chorobach układu krążenia.

MATERIAŁ I METODY

Pierwsza praca cyklu to praca poglądowa przygotowana zgodnie z protokołem Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis Protocols (PRISMA-P). Przegląd literatury wykonano 3 listopada 2021 roku w bazie PubMed używając słów kluczowych TMAO, atherosclerosis (ang. miażdżyca), coronary artery disease (ang. choroba naczyń wieńcowych), atrial fibrillation (ang. migotanie przedsionków) heart failure (ang. niewydolność serca), gut microbiota (mikrobiota jelitowa). Wyniki wybranych badań oraz metaanaliz omówiono w tekście oraz zebrano w tabelach.

Populację badań opisanych w pracach oryginalnych 2 i 3 stanowili kolejni pacjenci Kliniki Kardiologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu, hospitalizowani od marca 2013 do listopada 2015 roku, którzy wyrazili świadomą, pisemną zgodę na pobranie materiału biologicznego- próbki surowicy. Pacjenci, którzy nie wyrazili zgody na oddanie próbki na potrzeby przyszłych badań lub ich stan zdrowia nie pozwalał na wyrażenie świadomej zgody zostali wykluczeni z badania.

Zarówno praca poglądowa jak i prace oryginalne zostały przygotowane rzetelnie, zgodnie z zasadami prowadzenia badań naukowych. Przekłada się to na wiarygodność uzyskanych wyników oraz przydatność kliniczną przeprowadzonych analiz.

WYNIKI

Wyniki pracy badawczej są przedstawione w sposób zwięzły, stanowią podsumowanie prac wchodzących w skład cyklu. Praca poglądowa w sposób syntetyczny przedstawia aktualne dane dotyczące roli TMAO jako czynnika rokowniczego w chorobach układu krążenia. W podsumowaniu stwierdzono, że Na podstawie przeglądu literatury można stwierdzić, że TMAO jest użytecznym markerem ryzyka sercowo naczyniowego. Użyteczność kliniczna oznaczeń stężenia TMAO wymaga jednak potwierdzenia w prospektywnych, interwencyjnych badaniach klinicznych. Praca stanowi wstęp do cyklu publikacji i w sposób usystematyzowany podsumowuje aktualny stan wiedzy na temat TMAO w kontekście chorób układu krążenia.

Do obu prac oryginalnych włączono kolejnych pacjentów ze schorzeniami układu krążenia, niezależnie od prezentacji klinicznej. W pracy pierwszej analizowano 1036 pacjentów. W analizach jednoczynnikowych wykazano związek stężenia TMAO z rokowaniem, który nie potwierdził się

analizie wieloczynnikowej. W drugiej pracy oryginalnej analizowano tę samą grupę chorych pod kątem przydatności klinicznej stężenia cytruliny jako niezależnego czynnika rokowniczego u pacjentów obciążonych chorobami układu krążenia w obserwacji długoterminowej. Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem cytruliny a śmiertelnością długoterminową, danymi klinicznymi, wielochorobowością oraz TMAO.

Rozdział ten podzielony jest na jedenaście podrozdziałów, w których Doktorant przedstawia charakterystykę kliniczną oraz analizę związku analizowanych cząsteczek z założonymi czynnikami. Rozdział jest napisany zwięźle i rzeczowo i zawiera wszystkie istotne elementy, które są zawarte w pracach wchodzących w skład cyklu.

DYSKUSJA

Rozprawa nie zawiera osobnego rozdziału pod tytułem dyskusja. Niemniej jednak wyniki zostały wyczerpująco przedyskutowane w poszczególnych pracach cyklu. Dodatkowo w rozdziale Wyniki znajduje się krytyczny komentarz przeprowadzonych analiz co w mojej opinii jest wystarczające. W rozprawie znajduje się ponadto rozdział „Ograniczenia”, który szczegółowo opisuje potencjalne wątpliwości metodologiczne związane z analizą danych.

WNIOSKI

Wnioski są sformułowane zwięźle i wynikają z wyników przeprowadzonej pracy badawczej, a także odpowiadają na postawione na wstępie cele badania. Potwierdzają one nie tylko znaczenie badawcze uzyskanych wyników, ale także możliwość praktycznego przełożenia wniosków na praktykę kliniczną. Wydaje się, że we wniosku pierwszym zbędny jest opis uzyskanych wyników analizy jednoczynnikowej. Ostatecznie, nie stwierdzono związku stężenia TMAO z rokowaniem pacjentów.

UWAGI I KOMENTARZE

W odniesieniu do ewentualnych ograniczeń rozprawy oraz moich uwag pragnę zauważyć, że analizowana rozprawa doktorska nie ma istotnych ani merytorycznych wad. Prace wchodzące w skład cyklu zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach i nie wymagają istotnego komentarza. Ograniczenia związane z retrospektywnym i obserwacyjnym charakterem analiz zostały opisane w „Ograniczeniach badania”

Przedstawione powyżej uwagi po części wynikają z ciekawości naukowej recenzenta, a ponadto mają w większości mają charakter techniczny. Nie mają wpływu na wysoką ocenę merytoryczną dysertacji.

UWAGI KOŃCOWE

Stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska lek. Radosława Koniecznego pt.: „Wpływ uszkodzenia bariery jelitowej, mierzonego poziomem cytruliny i poziomu N-tlenku trimetyloaminy w surowicy na rokowanie u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi” spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz 595, z późn. zm.).

Podsumowując, uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Radosława Koniecznego jest pracą wartościową pod względem naukowym, dobrze przygotowaną warsztatowo i wnosi elementy poznawcze związane z rolą cząstek mikrobioty jelitowej w rokowaniu pacjentów ze schorzeniami układu krążenia.

Dlatego też wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Radosława Koniecznego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, zważywszy na nowatorskie elementy poznawcze zawarte w recenzowanej dysertacji, a także potencjalne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników zgłaszam wniossek o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Dr hab. n. med.
Michał Hawranek
Specjalista chorób wewnętrznych
KARDIOLOG