

Prof. dr hab. Agata Stanek
Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych,
Angiologii i Medycyny Fizykalnej
Śląski Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze
ul. Batorego 15
41-902 Bytom

Bytom, 15.05.2023

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Jakuba MOCHOLA
pt. „Ocena regulacji biodostępności tlenu azotu
w erytrocytach u osób z zespołem bezdechu sennego”**

Promotor: prof. dr hab. n.med. Adrian Doroszko

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. Helena Martynowicz, prof. UMW

Podstawę opracowania recenzji przez mnie stanowi otrzymane pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z dnia 04.04.2023 nr RN-BM/433/2023 i przekazana rozprawa doktorska.

1. Ocena merytoryczna

Na podstawie art.187.1 ust. 3 ustawy z dnia 20.07.2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 poz.85 z późn.zm rozprawa lek. Jakuba MOCHOLA pt. „Ocena regulacji biodostępności tlenu azotu w erytrocytach u osób z zespołem bezdechu sennego” ma formę spójnego tematycznie zbioru artykułów (pracy poglądowej i pracy oryginalnej, które zostały opublikowane w latach 2021-2022 o łącznym współczynniku oddziaływania **IF=10,822** w momencie składania dysertacji i **MEiN = 280**

W pracach tych lek. Jakub MOCHOL jest pierwszym autorem. Potwierdza to wiodącą rolę Doktoranta w realizację badania.

Są to publikacje:

1. **Mochol J**, Gawrys J, Gajecki D, Szahidewicz-Krupska E, Martynowicz H, Doroszko A. Cardiovascular Disorders Triggered by Obstructive Sleep Apnea-A Focus on Endothelium and Blood Components. Int J Mol Sci. 2021;22(10):5139. doi: 10.3390/ijms22105139.

IF₂₀₂₁: 6.208, MEiN = 140 pkt

2. **Mochol J**, Gawryś J, Szahidewicz-Krupska E, Wiśniewski J, Fortuna P, Rola P, Martynowicz H, Doroszko A. Effect of Obstructive Sleep Apnea and CPAP Treatment on the Bioavailability of Erythrocyte and Plasma Nitric Oxide. Int J Environ Res Public Health. 2022;19(22):14719. doi: 10.3390/ijerph192214719.

IF₂₀₂₁:4,614 MEiN = 140 pkt

Sumaryczny IF=10,822 Suma pkt MEiN = 280

Rozprawa doktorska lek. Jakuba MOCHOLA składa się z listy publikacji wchodzących w skład cyklu, wykazu skrótów i symboli, omówienia publikacji, załączonych prac, oświadczeń współautorów, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz dołączonej zgody komisji bioetycznej. Całość rozprawy napisana jest w przejrzysty i zrozumiały sposób, a jednocześnie poruszający niezbędne zagadnienia związane z tematem pracy. Jednakże brakuje mi osobno wyodrębnionego rozdziału określającego cel i założenia pracy oraz rozdziału z wnioskami.

a) Trafność podjętej problematyki i jej oryginalność

W polskich badaniach epidemiologicznych obturacyjny bezdech senny stwierdzono u 11,2% mężczyzn i u 3,4% kobiet. Według niektórych danych zespół bezdechu sennego może dotyczyć nawet ponad 25% mężczyzn po 40. roku życia. Zespół ten może prowadzić do poważnych konsekwencji zdrowotnych, w tym m.in. zaburzeń rytmu serca, nadciśnienia, a nawet udaru mózgu czy cukrzycy. Dlatego, wybór tematu pracy Doktoranta uważam za aktualny i uzasadniony.

Celem rozprawy doktorskiej było sprawdzenie czy erytrocyty mogą odgrywać rolę w magazynowaniu i gromadzeniu asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA) u pacjentów z zespołem bezdechu sennego. Ponadto badano powiązanie między poziomami ADMA, symetrycznej dimetyloargininy (SDMA), L-argininy i L-cytruliny w erytrocytach a funkcją śródbłonna na początku badania, jak i prospektywnie po rocznym leczeniu CPAP (ciągłe dodatnie ciśnienie w drogach oddechowych).

Postawiono następujące hipotezy badawcze:

1. braku różnic w zakresie metabolizmu tlenu azotu w erytrocytach oraz osoczu u osób z OBS i bez takiego rozpoznania,
2. braku różnic w zakresie funkcji wazodylatacyjnej śródbłonna ocenionej metodą Laser Doppler w grupie osób z OBS i bez takiego rozpoznania,
3. braku wpływu terapii CPAP na oceniane parametry biochemiczne szlaku biodostępności tlenu azotu i funkcji wazodylatacyjnej śródbłonna.

W pierwszej pracy poglądowej pt „**Cardiovascular Disorders Triggered by Obstructive Sleep Apnea-A Focus on Endothelium and Blood Components**” dokonano przeglądu i podsumowania aktualnego stanu wiedzy na temat mechanizmów mających wpływ na zwiększenie ryzyka sercowo-naczyniowego w bezdechu sennym. Praca ta opisuje szereg zmian toczących się na poziomie komórkowym wywołanych przez następujące po sobie okresy hipoksji i reoksygenacji. Ponadto usystematyzowano wpływ bezdechu sennego na wystąpienie innych manifestacji chorób układu sercowo-naczyniowego, jak

nadciśnienie tętnicze, cukrzyca i w konsekwencji miażdżycy, niewydolność serca czy migotanie przedsionków. W pracy tej przedstawiono również zmiany wywołane terapią CPAP i podsumowano doniesienia naukowe na temat wspomagającego wpływu jej stosowania w aspekcie ich leczenia. Wartością tej pracy oprócz podsumowania aktualnej wiedzy w tej tematyce są ryciny, które pozwalają lepiej zrozumieć zachodzące mechanizmy molekularne.

Udział Doktoranta w tej pracy polegał na przeszukaniu baz danych, analizie zebranych danych oraz stworzeniu zasadniczej części manuskryptu wraz z rycinami.

W drugiej pracy oryginalnej pt. **„Effect of Obstructive Sleep Apnea and CPAP Treatment on the Bioavailability of Erythrocyte and Plasma Nitric Oxide”** badano ekspresję osi biotransformacji tlenu azotu w erytrocytach osób z bezdechem sennym. Do badania kwalifikowano osoby z podejrzeniem OBS w przedziale 30-70 lat. Do grupy badanej włączono 46 osób. Oceniano parametry biochemiczne służące do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego oraz badań biochemicznych oceniających osoczowe i wewnątrz-erytrocytarne elementy osi biotransformacji NO. Po przeprowadzeniu polisomnografii, pacjentów podzielono na podgrupy w zależności od ciężkości OBS. U każdego pacjenta wykonano nieinwazyjną ocenę wazodylatacyjnej funkcji śródbłonna naczyniowego za pomocą przepływomierza laserowego (*Laser-Doppler*). U pacjentów, u których wdrożono terapię CPAP przeprowadzono ponowną prospektywną ewaluację funkcji śródbłonna - *follow-up* w 1-roczej obserwacji i oznaczono metabolity szlaku tlenu azotu po około roku od rozpoczęcia regularnego stosowania terapii.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono brak różnic w stężeniu asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA) wewnątrz erytrocytów w zależności od ciężkości bezdechu. Stężenie ADMA w osoczu było najczęściej około 2 razy większe niż w erytrocytach, wskazując tym samym, że erytrocyty mogą stanowić wysokoobjętościowy układ buforowy dla tego inhibitora. Leczenie bezdechu sennego CPAP nie indukowało istotnej statystycznie poprawy funkcji śródbłonna, jednak wiązało się z tendencją do zwiększonej odpowiedzi wazodylatacyjnej na bodziec termiczny w badaniu *Laser Doppler Flowmetry* (LDF). Osoczowe stężenie L-Cytrulina było znamienne u osób ze średnim i ciężkim OBS, Kardiometaboliczne markery ryzyka sercowo-naczyniowego, jak stężenie kwasu moczowego i insuliny na czczo oraz hsCRP lepiej korelowały ze stopniem ciężkości OBS niż zmiany dotyczące wykładników biodostępności tlenu azotu. Praca kończy się następującym wnioskiem:

„Pula erytrocytarnych produktów pośrednich szlaku metabolicznego NO nie zależy od ciężkości bezdechu sennego, a erytrocyty mogą stanowić bufor o dużej objętości podczas ich przechowywania. Stosowanie CPAP przez rok nie spowodowało zmian w równowadze między erytrocytami a pulą osoczną produktów szlaku metabolicznego NO. Wyniki tego badania prospektywnego stanowią krok naprzód w

zrozumieniu roli kompartmentu erytrocytów i szlaków wewnątrzerytrocytarnych regulujących biodostępność NO i parakrynną funkcję śródbłonna w warunkach niedotlenienia-reoksygenacji, takich jak obturacyjny bezdech senny. Niemniej jednak przyszłe duże badania prospektywne z dokładnym dopasowaniem przypadków w grupach pod kątem chorób współistniejących ograniczyłyby potencjalnie rozpraszający wpływ współistniejących zaburzeń na wyniki”.

Udział Doktoranta w tej pracy polegał na współpracy w opracowaniu koncepcji badań, zdobyciu finansowania na badania, rekrutacji i badaniu pacjentów, wykonaniu badań czynnościowych, analizie statystycznej danych oraz napisaniu zasadniczej części manuskryptu.

b) Ocena uzyskanych rezultatów i ich znaczenie dla nauki i praktyki

Rozprawa posiada nowatorski charakter, wnosząc nowe informacje na temat roli kompartmentu erytrocytów i szlaków wewnątrzerytrocytarnych regulujących biodostępność NO i parakrynną funkcję śródbłonna w warunkach niedotlenienia-reoksygenacji, takich jak obturacyjny bezdech senny. Dzięki lepszemu zrozumieniu powyższych mechanizmów wyniki Doktoranta mogą w przyszłości mieć istotne implikacje kliniczne, gdyż poznanie dokładnych molekularnych aspektów przemian tlenu azotu w erytrocytach może pozwolić na opracowanie inhibitorów arginazy, leków przeciwdziałających rozprężaniu NOS lub redukujących stres oksydacyjny.

Ponieważ wyniki pracy mogą mieć szerokie implikacje w praktyce klinicznej, proszę Doktoranta w czasie publicznej obrony o:

- przedyskutowanie dalszych kroków dotyczących weryfikacji i walidacji uzyskanych wyników
- Czy Doktorant dostrzega jakieś ograniczenia uzyskanych wyników?

c) Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Doktorant posługuje się poprawnym słownictwem charakterystycznym dla prac naukowych, medyczny język angielski i polski jest prawidłowy. Praca doktorska napisana jest poprawnie pod względem formalno - językowym, stylistycznym i interpunkcyjnym.

1. Ocena metodologiczna

a) dobór literatury, umiejętności, wykorzystanie źródeł

Piśmiennictwo w większości pozycji jest aktualne, ściśle związane z tematem pracy doktorskiej i umiejętnie zacytowane. Doktorant posiada dużą znajomość literatury przedmiotu.

b) poprawność formułowania problemów i hipotez (założenia badawcze)

Cele i hipotezy badawcze zostały sformułowane prawidłowo. Wnioski odpowiadają ściśle postawionym celom pracy i znajdują podparcie w przedstawionych wynikach. Szkoda jednak, że Doktorant w swojej rozprawie nie wyszczególnił osobnego rozdziału określającego cele pracy oraz wnioski.

c) trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zastosowania

Opis metodyki prac zawiera wszelkie konieczne informacje niezbędne dla zorientowania się w sposobie przeprowadzania badania. Doktorant zastosował odpowiednie i nowoczesne metody diagnostyczne gwarantujące rzetelność i powtarzalność uzyskanych wyników oraz wykorzystał odpowiednie metody statystyczne.

d) poprawność układu pracy i struktury podziału treści

Układ pracy i struktura podziału treści pracy odpowiada standardom prac doktorskich. Rozprawa doktorska może mieć formę spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych, z ich opisem w języku polskim i angielskim (art. 187.1, ust. 3 i 4), i taką formę dysertacji wybrał Doktorant.

2. Wniosek końcowy

Przystępując do oceny całości stwierdzam, praca doktorska lek. Jakuba MOCHOLA stanowi bardzo wartościowy i nowatorski dorobek naukowy. Całokształt rozprawy doktorskiej oceniam pozytywnie. Rozprawa posiada nowatorski charakter, wnosząc nowe informacje na temat roli kompartmentu erytrocytów i szlaków wewnątrzerytrocytarnych regulujących biodostępność NO i parakrynną funkcję śródbłonna w warunkach niedotlenienia-reoksygenacji, takich jak obturacyjny bezdech senny. Dzięki lepszemu zrozumieniu powyższych mechanizmów wyniki Doktoranta mogą w przyszłości mieć istotne implikacje kliniczne, gdyż poznanie dokładnych molekularnych aspektów przemian tlenu azotu w erytrocytach może pozwolić na opracowanie inhibitorów arginazy, leków przeciwdziałających rozprężaniu NOS lub redukujących stres oksydacyjny. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Jakuba MOCHOLA spełnia warunki określone w art.13.ust.1 ustawy z dnia 14 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) w związku z czym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o przyjęcie dysertacji pt. „Ocena regulacji biodostępności tlenu azotu w erytrocytach u osób z zespołem bezdechu sennego” jako rozprawy doktorskiej, dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych.

