



dr hab. inż. Magdalena Rowińska-Żyrek, prof. UWr
Biologically Active Metalopeptides Group
Faculty of Chemistry, University of Wrocław
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: magdalena.rowinska-zyrek@uwro.edu.pl

BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpł. dnia	08-11-2024
L. dz. RN-BM/	

Wrocław, 5.11.2024r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Urszuli Jakobsche-Policht "Analiza ekspresji receptora PAR-1 w płytkach krwi oraz wybranych polimorfizmów genu PAR-1 u pacjentów z miażdżycą zarostową"

Rozprawa doktorska mgr Urszuli Jakobsche-Policht została zrealizowana pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Madziarskiej, prof. UMW, na Uniwersytecie Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, a jej główne konkluzje stanowią istotny wkład w badania nad rolą receptorów aktywowanych proteazami (PAR) w kontekście hemostazy i stanów zapalnych, szczególnie w odniesieniu do miażdżycy oraz cukrzycy. Praca została przygotowana w formie tradycyjnej; zawiera szereg typowych dla prac doktorskich sekcji i obejmuje wszystkie niezbędne elementy formalne. We wstępie pracy Doktorantka wprowadza czytelnika w problematykę chorób cywilizacyjnych, jakimi są miażdżycy i cukrzyca, przedstawiając ich rosnącą epidemiologię oraz ogromne obciążenie dla systemów zdrowotnych na całym świecie. Obszerna, trafnie opisana część literaturowa wprowadza czytelnika w temat mechanizmów zapalnych, hemostatycznych oraz roli płytek krwi i mikroplatek w procesie miażdżycy i zakrzepicy, jednocześnie szczegółowo omawiając działanie receptorów aktywowanych proteazami (PAR) w organizmach pacjentów z miażdżycą i cukrzycą. Część literaturowa rozprawy dostarcza również cennych informacji na temat wybranych polimorfizmów genu PAR-1, których analiza stanowiła ważny element badań eksperymentalnych. Tło teoretyczne jest przygotowane w sposób przemyślany i kompleksowy; jest ono bardzo użyteczne dla czytelnika i pozwala na lepsze zrozumienie założeń badawczych.

W kolejnym rozdziale Doktorantka w sposób klarowny formułuje cele swojej pracy, które obejmują badania nad poziomem ekspresji receptora PAR-1 w płytkach krwi i mikroplatek pacjentów z miażdżycą zarostową i makroangiopatią cukrzycową oraz



dr hab. inż. Magdalena Rowińska-Żyrek, prof. UWr
Biologically Active Metalopeptides Group
Faculty of Chemistry, University of Wrocław
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: magdalena.rowinska-zyrek@uwr.edu.pl

nad polimorfizmami genetycznymi, które mogą wpływać na ekspresję tego receptora. Interesującym aspektem tej pracy jest dogłębne podejście do różnic między miażdżycą zarostową a makroangiopatią cukrzycową, z podkreśleniem specyficznych mechanizmów zapalnych i genetycznych, które mogą różnicować te schorzenia.

Konkretnymi, szczegółowymi celami pracy są: określenie poziomu ekspresji receptora powierzchniowego PAR-1 na płytkach krwi; wskazanie wpływu polimorfizmów genetycznych PAR-1 na rozwój i przebieg miażdżycy zarostowej oraz makroangiopatii cukrzycowej; analiza zależności między poziomem PAR-1 a wskaźnikami metabolicznymi w miażdżycy zarostowej i makroangiopatii cukrzycowej; wyznaczenie roli PAR-1 w mechanizmach rozwoju choroby; określenie znaczenia mikroplatek w procesie miażdżycowym i ocena użyteczności badania mikroplatek metodą cytometryczną w diagnostyce schorzeń zakrzepowych.

Z kolejnego rozdziału dowiadujemy się, że mgr Jakobsche-Policht bardzo dobrze zna metodologię stosowanych przez siebie badań; praca wyróżnia się starannie dobranym, uzupełniającym się zestawem metod badawczych, które umożliwiły Autorce uzyskanie szeregu precyzyjnych wyników. Doktorantka zastosowała cytometrię przepływową do oceny poziomu aktywacji receptorów PAR-1 na powierzchni płytek krwi i mikroplatek, korzystając z syntetycznego analogu trombiny (TRAP) jako czynnika aktywującego. Technika ta, w połączeniu z metodami obrazowania mikroplatek, pozwoliła na precyzyjną ocenę stopnia aktywacji płytek w różnych grupach badanych pacjentów. Poziom ekspresji PAR-1 był analizowany zarówno przed, jak i po aktywacji TRAP, co dostarczyło szczegółowych danych na temat odpowiedzi biologicznej komórek w różnych kontekstach klinicznych.

Mgr Jakobsche-Policht przeprowadziła również badania molekularne z użyciem RT-PCR, które umożliwiły analizę ekspresji mRNA genu PAR-1 oraz wykrycie wybranych polimorfizmów w obrębie tego genu. Analiza korelacji pomiędzy wynikami uzyskanymi metodami cytometrycznymi a wynikami genotypowania stanowi dodatkowy atut



dr hab. inż. Magdalena Rowińska-Żyrek, prof. UWr
Biologically Active Metalopeptides Group
Faculty of Chemistry, University of Wrocław
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: magdalena.rowinska-zyrek@uwr.edu.pl

pracy, umożliwiając ocenę wpływu polimorfizmów na ekspresję receptorów PAR-1 oraz na ich aktywność funkcjonalną.

Z najciekawszego z rozdziałów, czyli z tego, w którym doktorantka opisuje uzyskane wyniki, dowiadujemy się, że pacjenci z miażdżycą zarostową mieli niższe BMI, poziom glukozy i mocznika w porównaniu do osób z makroangiopatią cukrzycową. Co bardzo ciekawe poznawczo – doktorantka udowodniła, że płytki krwi osób z makroangiopatią cukrzycową miały większą tendencję do rozwoju zaburzeń miażdżycowych z aktywacją receptora PAR-1 niż płytki osób z miażdżycą zarostową; ponadto, u pacjentów z makroangiopatią cukrzycową częściej występowały mutacje genu PAR-1, które sprzyjały aktywacji i agregacji płytek, podczas gdy w grupie z miażdżycą zarostową obecność allelu I genu PAR-1 mogła działać ochronnie.

Czytając pracę, można wysnuć hipotezę mówiącą, że receptor PAR-1 odgrywa szczególnie istotną rolę w progresji makroangiopatii cukrzycowej, co może potencjalnie otworzyć nowe możliwości diagnostyczne oraz terapeutyczne w leczeniu cukrzycy i jej powikłań.

Doktorantka zasugerowała, że aktywacja mikroplatek za pomocą TRAP może pomóc w rozróżnianiu miażdżycy zarostowej od makroangiopatii cukrzycowej i udowodniła, że niższy poziom czynnika vWF u osób z miażdżycą zarostową mogą spowalniać procesy miażdżycowe i zapalne.

Mgr Jakobsche-Policht pokazała również, że choć procent mikroplatek sam w sobie nie wpływał na ryzyko miażdżycy zarostowej, to wysoki ich odsetek w połączeniu z intensywną aktywacją PAR-1 zwiększał to ryzyko.

Rozdział opisujący główne wyniki pracy jest rozbudowany i wypełniony wartościowymi danymi, które są rzetelnie analizowane i interpretowane. Autorka zwraca uwagę na znaczenie poszczególnych polimorfizmów genetycznych w modulacji aktywności receptorów PAR-1. Analiza statystyczna wyników pozwoliła na identyfikację korelacji między obecnością polimorfizmów a zmianami w ekspresji PAR-1, co dostarcza użytecznych informacji na temat roli tych wariantów genetycznych w rozwoju stanów zapalnych i hemostatycznych u pacjentów. Jest to szczególnie cenne w kontekście



dr hab. inż. Magdalena Rowińska-Żyrek, prof. UWr
Biologically Active Metalopeptides Group
Faculty of Chemistry, University of Wrocław
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: magdalena.rowinska-zyrek@uwr.edu.pl

personalizacji terapii oraz w identyfikacji pacjentów najbardziej narażonych na ryzyko powikłań zakrzepowych.

Badania przeprowadzone przez mgr Jakobsche-Policht mają potencjalne znaczenie kliniczne – wskazanie roli receptora PAR-1 w progresji makroangiopatii cukrzycowej może stanowić podstawę do poszukiwania nowych biomarkerów oraz celów terapeutycznych, co ma szczególne znaczenie w kontekście pacjentów z cukrzycą typu 2, gdzie ryzyko powikłań zakrzepowych jest znacząco zwiększone. W dalszej perspektywie, omawiana praca może przyczynić się do rozwoju nowych terapii ukierunkowanych na modulację aktywności receptorów PAR-1 w celu zmniejszenia ryzyka zakrzepicy oraz powikłań miażdżycy.

Rozprawę wieńczą streszczenia w języku polskim i angielskim, które trafnie podsumowują kluczowe osiągnięcia badawcze.

Główna część rozprawy jest napisana na 141 stronach, zawiera 23 ryciny i 13 tabel oraz cytuje 239 odniesień do literatury. Praca jest bardzo przyjemna w odbiorze, dobrze napisana (Doktorantka ma tzw. „lekkie pióro”), a przeprowadzone badania są wysokiej jakości. Jedynym zastrzeżeniem są rysunki, na których podpisy są w języku angielskim – oryginalne ilustracje z pewnością podniosłyby wartość wizualną pracy. W rozprawie nie zauważyłam żadnych poważniejszych braków, poza bardzo drobnymi błędami redakcyjnymi, które są na tyle drobne, że nie ma potrzeby o nich wspominać w piśmie, i które są na tyle drobne, że nie wpływają na moją bardzo wysoką ocenę rozprawy doktorskiej. Wszelkie uwagi zawarte w recenzji wynikają z ciekawości i nie wpływają na wysoką ocenę poziomu merytorycznego pracy, sposobu jej prezentacji i wyciągniętych z niej wniosków.

Wyniki rozprawy doktorskiej mgr Jakobsche-Policht mają zarówno znaczenie teoretyczne, jak i potencjalne zastosowanie kliniczne. Praca jest napisana klarownie i spójnie, co sprawia, że jest przyjemna w odbiorze, a sposób przedstawienia wyników



dr hab. inż. Magdalena Rowińska-Żyrek, prof. UWr
Biologically Active Metalopeptides Group
Faculty of Chemistry, University of Wrocław
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: magdalena.rowinska-zyrek@uwr.edu.pl

jest bardzo przystępny, czego naturalną konsekwencją jest chęć dowiedzenia się więcej na temat ekspresji i aktywności PAR-1:

1. W jaki sposób wybrano konkretne polimorfizmy genu PAR-1 do analizy? Czy istnieją dodatkowe warianty genetyczne, które mogłyby mieć znaczenie w badanej populacji?
2. Z jednego z podrozdziałów dowiadujemy się sporo na temat całej rodziny receptorów PAR. Czy Doktorantka planuje kontynuację badań nad innymi receptorami PAR (może PAR-2?) w kontekście chorób zapalnych i zakrzepowych? Czy może literatura mówi już coś na ten temat?
3. Czy czynniki środowiskowe mogłyby wpływać na ekspresję i aktywność receptorów PAR-1?
4. Czy istnieje potencjalna możliwość zastosowania terapii celowanych na PAR-1 w leczeniu miażdżycy lub cukrzycy? Jakie byłyby ewentualne trudności/wyzwania związane z takim podejściem?
5. Jakie korzyści kliniczne mogłoby przynieść wprowadzenie diagnostycznych markerów związanych z ekspresją PAR-1 i jego polimorfizmami?

Mierzalnym efektem pracy mgr Jakobsche-Policht jest 12 publikacji o łącznym współczynniku wpływu równym 21 (większość z nich w renomowanych czasopismach, takich jak *Journal of Physiology and Pharmacology*, *Advances in Clinical and Experimental Medicine*); prace powstawały na przestrzeni ostatnich 17 lat. Doktorantka jest pierwszą autorką jednej z nich. Niestety nie dowiadujemy się, ile z wyżej wymienionych prac jest bezpośrednio związanych z tematyką pracy doktorskiej – tu również prosiłabym o doprecyzowanie tej kwestii.

Doktorantka była wykonawczynią szeregu grantów (m.in. Sonata NCN, Preludium NCN dr Agnieszki Bronowickiej-Szydełko i w dwóch grantach uczelnianych; sama nie kierowała żadnym projektem).

Kandydatka wykazała się umiejętnością wszechstronnej analizy wyników, a napisana przez nią praca ma istotny wpływ na dziedzinę, interdyscyplinarny charakter i bardzo



WYDZIAŁ CHEMII

dr hab. inż. Magdalena Rowińska-Żyrek, prof. UWr
Biologically Active Metalopeptides Group
Faculty of Chemistry, University of Wrocław
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: magdalena.rowinska-zyrek@uw.edu.pl

dobrą jakość naukową; wnioski płynące z pracy znacząco wzbogacają naszą wiedzę o receptorach PAR.

Rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego i tym samym w pełni 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 powyższym rekomenduję Radzie Naukowej Dyscypliny Naukowej Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Urszuli Jakobsche-Policht do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki medyczne.

Z poważaniem,



Signed by /
Podpisano przez:

Magdalena Alina
Rowińska-Żyrek
Uniwersytet
Wrocławski

Date / Data:
2024-11-08 07:55

Magdalena Rowińska-Żyrek