

**Recenzja pracy doktorskiej lek. Anety Stachurskiej**  
***Zdolność wiązania egzogenego kobaltu przez albuminę osoczną pacjentów***  
***z ostrymi zespołami wieńcowymi***

Choroby układu krążenia są najczęstszą przyczyną umieralności w Polsce. W ostatnich latach dokonuje się ciągły postęp w diagnostyce i leczeniu pacjentów z objawami choroby wieńcowej, w tym jej najgroźniejszej postaci jaką są ostre zespoły wieńcowe. W zależności od tego, czy dochodzi do martwicy mięśnia sercowego, ostry zespół wieńcowy określa się zawałem serca lub niestabilną dławicą piersiową, kiedy to toczące się niedokrwienie nie powoduje jeszcze trwałego uszkodzenia miokardium. Nieleczona niestabilna dławica piersiowa prowadzi w konsekwencji najczęściej do zawału serca. W tym kontekście ważnym zagadnieniem, nad którym prowadzone są nieustannie badania, jest szybka i precyzyjna diagnostyka chorych potencjalnie zagrożonych wystąpieniem zawału serca zanim on wystąpi. Dlatego poszukuje się odpowiednich biomarkerów, które tak jak troponina dla rozpoznania martwicy miokardium, pozwoliłyby zidentyfikować najbardziej zagrożonych chorych jeszcze zanim dojdzie do nieodwracalnego uszkodzenia mięśnia sercowego.

Dlatego uważam, że temat podjęty przez Doktorantkę jest aktualny i ważny w aspekcie codziennej praktyki klinicznej i podejmowania jak najlepszych, strategicznych decyzji terapeutycznych u chorych z bólem w klatce piersiowej.

Przedstawiona do recenzji praca ma układ typowy. Liczy 163 strony, zawiera 35 tabel i 25 rycin. Cytowana literatura liczy 179 pozycji. Na przeprowadzenie badań zgodę wyraziła Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Na uwagę zasługuje bardzo obszerny wstęp, który jest w zasadzie kompendium wiedzy na temat zagadnień związanych z patofizjologią niedokrwienia mięśnia sercowego i aktualnej wiedzy i badań dotyczących biomarkerów ostrego niedokrwienia. Oceniam go wysoko, gdyż doskonale wprowadza i przygotowuje czytelnika do tematyki badań przedstawionych w dalszych częściach rozprawy. Doktorantka omawia w kolejności definicje i postaci kliniczne choroby niedokrwiennej serca, epidemiologię ostrych zespołów wieńcowych a następnie ich

patogenezę w kontekście miażdżycy jako przewlekłego stanu zapalnego, miejscowego i systemowego. Opis zmian biochemicznych w mięśniu serca pod wpływem niedokrwienia i reperfuzji wprowadza nas zwięźle i przekrojowo w historię badań nad markerami oraz opisu współcześnie używanych i badanych biomarkerów w ostrych zespołach wieńcowych. Doktorantka słusznie zauważa, że choć troponiny są uznanymi markerami martwicy, to zanim dochodzi do wzrostu ich stężenia, toczą się etapy zapalenia, niestabilności i pęknięcia blaszki miażdżycowej. I dlatego wciąż poszukiwane są nowe biomarkery, które identyfikowałyby zaawansowanie procesu, prowadzącego w konsekwencji do nieodwracalnego uszkodzenia komórek mięśnia sercowego.

Do jednego z takich markerów pretenduje albumina modyfikowana niedokrwieniem, która stanowi temat badań Doktorantki. Stąd kolejne podrozdziały wstępu szczegółowo opisują mechanizmy jej powstawania, metodykę oznaczeń (w tym zdolności wiązania egzogenego kobaltu przez ludzką albuminę osoczną, która jest podstawowym sposobem oceny zmian konformacyjnych albuminy w warunkach niedokrwienia), standaryzację pomiarów oraz potencjalne wykorzystanie albuminy modyfikowanej niedokrwieniem w diagnostyce i stratyfikacji ryzyka w ostrych zespołach wieńcowych jak i innych stanach chorobowych. W tej części rozprawy Doktorantka zwraca uwagę, że wyniki badań nad albuminą modyfikowaną niedokrwieniem w ostrych zespołach wieńcowych nie pozwalają wyciągnąć jednoznacznych wniosków nad jej przydatnością, gdyż są niejednokrotnie rozbieżne w swoich wynikach i wnioskach. Uważam, iż sposób przedstawienia problemu badawczego we wstępie wskazuje na bardzo dobrą wiedzę lek. Anety Stachurskiej w zakresie podjętych prac badawczych.

Następnie Doktorantka przedstawia cel badania, którym była ocena zdolności wiązania egzogenego kobaltu przez albuminę osoczną, podlegającą zmianom konformacyjnym u pacjentów w przebiegu ostrych zespołów wieńcowych. Należy zwrócić uwagę, że cel ten został sformułowany bardzo ostrożnie, bez stawiania konkretnej hipotezy badawczej. Tym niemniej, biorąc pod uwagę aktualną wiedzę przedstawioną we wstępie, takie podejście wydaje się być uzasadnione. Myślę, że dla jasności, warto było dodać, że chodzi tylko o chorych leczonych inwazyjnie, z wykonaną koronarografią. Ponadto doktorantka podjęła się próby określenia dynamiki i specyfiki procesu wiązania egzogenego kobaltu przez albuminę osoczną w przebiegu różnych postaci klinicznych ostrych zespołów wieńcowych jak również oceny wartości diagnostycznej albuminy modyfikowanej niedokrwieniem w rozpoznawaniu ostrych zespołów wieńcowych i porównania jej z siłą

diagnostyczną innych biomarkerów, takich jak białko wiążące wolne kwasy tłuszczowe, wysokoczułe białko C-reaktywne i lipokaina 2.

W rozdziale „Materiał i metody” Doktorantka szczegółowo i poprawnie definiuje badaną grupę chorych (ostre zespoły wieńcowe leczone inwazyjnie), grupy kontrolne (stabilna choroba wieńcowa i osoby zdrowe), podając kryteria włączenia i wyłączenia oraz czas rekrutacji chorych do badania. Liczne kryteria wyłączenia, zaprezentowane w tabeli 1., związane ze stanami chorobowymi, które mogą istotnie wpłynąć na wartość oznaczeń albuminy modyfikowanej niedokrwieniem, najpewniej przyczyniły się do niewielkiej liczebności grupy badanej (76 chorych). Następnie precyzuje wykonywane badania diagnostyczne, analizowane czynniki kliniczne i angiograficzne oraz metodykę oznaczeń i czas pobierania próbek krwi do pomiarów będących tematem rozprawy – przy przyjęciu, po 2-4 godzinach od wykonania zabiegu PCI oraz po 12 tygodniach od ostrego zespołu wieńcowego. Zwraca uwagę, iż tylko 33 z 62 chorych wyraziło zgodę na pobranie drugiej próbki krwi 2-4 godz. po PCI, a na pobranie trzeciej próbki zgłosiło się 55 z 76 chorych, co niewątpliwie utrudniło Doktorantce prowadzenie analiz. Ten rozdział kończy opis metod statystycznych, który należy uznać za poprawny.

W pracy doktorskiej przeprowadzono bardzo liczne i przekrojowe analizy, bogato ilustrowane tabelami i wykresami. Doktorantka, ze względu na małą liczebność grup oraz dużą zmienność parametru zdolności wiązania egzogenego kobaltu przez albuminę osoczną, mierzoną wartością parametru IMA(ABSU), zastosowała różne metody, aby poprawić wiarygodność uzyskiwanych wyników, co jest niewątpliwie atutem pracy. Wyniki pokazały między innymi, że wartość IMA(ABSU) w pierwszym pomiarze w całej grupie OZW jest większa niż u osób zdrowych. Najwyższe wartości obserwowano w pomiarach 2-4 godz. po zabiegu PCI, natomiast wartości w pomiarach po 12 tygodniach od ostrego zespołu wieńcowego były niższe niż pierwsze (przy przyjęciu). Nie stwierdzono korelacji IMA(ABSU) z innymi badanymi markerami. Ponadto nie wykazano zależności poszczególnych postaci klinicznych ostrego zespołu wieńcowego, ilości zwężonych tętnic jak i frakcji wyrzutowej lewej komory serca.

Jeżeli chodzi o prezentację wyników zobligowany jestem do wskazania również poniższych punktów, wymagających moim zdaniem korekty przed publikacją badania:

- przy tak małych liczebnościach procenty powinno się podawać w zaokrągleniu do liczby całkowitej,

- w analizie zawartej w tabeli 8 na stronie 69 zdaniem recenzenta powinno zastosować się test chi-kwadrat a nie test Kruskala-Wallisa dla wielu zmiennych niezależnych,
- w kilku miejscach w tabelach kolejność wymieniania postaci choroby niedokrwiennej serca odbiega od naturalnej kolejności jaką jest: stabilna choroba wieńcowa, niestabilna choroba wieńcowa, zawał serca bez uniesienia odcinka ST i zawał serca z uniesieniem odcinka ST,
- w tabeli 11B najpewniej omyłkowo podano UA (niestabilną chorobę wieńcową) zamiast SA (stabilnej choroby wieńcowej),
- moje wątpliwości budzą również podane w tabelach 20 i 21 korelacje ze względu na małe liczebności w niektórych podgrupach oraz wartości AUC poniżej 0,5 w analizach ROC w rozdziale 4.3.7.

Omówienie wyników przeprowadzone przez Doktorantkę wskazuje na umiejętność dogłębnej analizy i interpretacji uzyskanych wyników w kontekście zarówno ograniczeń przeprowadzanych analiz jak i odniesienia się do najnowszej literatury w tym zakresie. Ciekawemu podsumowaniu wyników poświęcony jest odpowiedni rozdział rozprawy. Warto podkreślić również dobrze przygotowany rozdział związany z ograniczeniami pracy i potencjalnymi implikacjami klinicznymi.

Doktorantka na podstawie uzyskanych wyników analiz wyciągnęła w sposób prawidłowy i odpowiadający na postawione sobie cele cztery wnioski: (1) zdolność wiązania egzogenego kobaltu przez albuminę osoczną u pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi zmniejsza się istotnie bezpośrednio po angioplastyce wieńcowej, co sugeruje występowanie w albuminie zmian konformacyjnych i związek tego zjawiska z następstwami niedokrwienia i reperfuzji; (2) czułość diagnostyczna i predykcyjna zmian wartości IMA(ABSU) jest zbyt mała dla różnicowania poszczególnych postaci klinicznych ostrych zespołów wieńcowych, nawet po uwzględnieniu relacji pomiędzy IMA(ABSU) i stężeniem albuminy w surowicy; (3) dla potrzeb diagnostycznych i prognostycznych u chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi wartość oceny zmian IMA(ABSU) jest ograniczona i mniejsza w odniesieniu do troponiny TnI, cechując się mniejszą czułością i ujemną wartością predykcyjną; (4) podwyższona wartość IMA(ABSU) u chorych prezentujących klasyczne czynniki ryzyka choroby wieńcowej może wpływać na stratyfikację ryzyka i dalsze postępowanie diagnostyczne w stabilnej postaci choroby wieńcowej.

Dla Recenzenta najważniejszym spostrzeżeniem wynikającym z przedstawionej analizy jest fakt, że należy nadal aktywnie poszukiwać markerów związanych z wysokim

ryzykiem wystąpienia zawału serca jeszcze zanim dojdzie do jawnej klinicznie martwicy miokardium, a tym samym poprawić stratyfikację ryzyka chorych z bólem w klatce piersiowej.

Podsumowując, w mojej ocenie przedstawiona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lekarza Anety Stachurskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

5 października 2019r.

J. Grabiec