

**Dr hab. n. med. Marek Gierlotka, Prof. UO**  
Klinika Kardiologii Instytutu Nauk Medycznych  
Wydział Lekarski, Uniwersytet Opolski  
Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Opolu  
Al. Wincentego Witosa 26, 45-401 Opole

Opole, 28 grudzień 2020r.

**Recenzja pracy na stopień doktora nauk medycznych**  
**lekarz Karoliny Stokfisz**  
**„Hartowanie przez niedokrwienie jako metoda zapobiegania ostremu uszkodzeniu nerek”**

Ostre uszkodzenie nerek (AKI) jest częstym problemem, z którym spotykamy się na co dzień, lecząc pacjentów ze schorzeniami sercowo-naczyniowymi. Pojawia się ono w wyniku upośledzenia perfuzji nerek, uszkodzenia struktur nerek lub z powodu niedrożności dróg odprowadzających mocz. Przebiega jako naturalna konsekwencja schorzenia lub może być powikłaniem wdrożenia postępowania terapeutycznego. Do czynników ryzyka rozwoju AKI należą między innymi starszy wiek, przewlekła choroba nerek, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, anemia, niewydolność serca, stopień zaawansowania chorób przewlekłych, niestabilność hemodynamiczna. Ostre uszkodzenie nerek może wystąpić jako powikłanie stosowania leków nefrotoksycznych (w tym kontrastów radiologicznych), leków inotropowych i wazoaktywnych oraz rozległych zabiegów operacyjnych. Wystąpienie AKI jest bezpośrednim czynnikiem ryzyka niekorzystnego rokowania i pomimo zastosowania w koniecznych przypadkach terapii nerkozastępczej, obarczona jest zwiększonym ryzykiem zgonu podczas hospitalizacji i po wypisie.

Aktualne strategie zapobiegania wystąpieniu ostrego uszkodzenia nerek to wczesna identyfikacja pacjentów z grupy ryzyka, unikanie stosowania substancji nefrotoksycznych, odpowiednie nawodnienie oraz w przypadku zabiegów z zastosowaniem kontrastu, wybór preparatów o niskiej osmolarności i maksymalne możliwe ograniczenie jego ilości, w tym wykonywanie zabiegów z ultraniską ilością kontrastu.

Pomimo podejmowanych działań nie udaje się wciąż w satysfakcjonującym nas odsetku ograniczyć częstość występowania ostrego uszkodzenia nerek po zabiegach kardiologii interwencyjnej jak również po rozległych zabiegach kardiochirurgicznych, które coraz częściej wykonujemy u chorych starszych, z wielochorobowością i w trybie nagłym. Jedną z potencjalnych strategii ograniczania częstości występowania AKI jest hartowanie

przez niedokrwienie. Dlatego temat podjęty w swojej rozprawie doktorskiej przez lek. Karolinę Stokfisz jest aktualny i ważny w kontekście poszukiwania potencjalnych dodatkowych metod zapobiegania ostremu uszkodzeniu nerek w naszej codziennej praktyce klinicznej.

Na rozprawę doktorską składają się trzy spójne tematycznie publikacje w czasopismach recenzowanych, praca pogładowa i dwie prace oryginalne, w których Doktorantka jest pierwszym autorem, oraz praca typu monografia licząca 120 stron, która obejmuje swoim zakresem cały przedstawiony w rozprawie dorobek i zawierająca typowy dla tego rodzaju opracowań układ rozdziałów: wstęp, cel pracy, publikacje stanowiące rozprawę doktorską, podsumowanie wyników z ich omówieniem, wnioski oraz spis 96 pozycji dobrze dobranego piśmiennictwa. Łączny Impact Factor publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 3.578 a całkowita liczba punktów za publikacje stanowiące rozprawę doktorską, według listy czasopism punktowanych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi 180.

W zwięzłe i dobrze napisanym wstępie oraz w pierwszej z cyklu, podglądowej publikacji (*Ischaemic preconditioning - Current knowledge and potential future applications after 30 years of experience*), która stanowi podsumowanie badań i analiz dostępnej literatury dotyczącej hartowania przez niedokrwienie, Doktorantka w sposób przystępny i wyczerpujący systematyzuje znane mechanizmy działania zarówno hartowania przez niedokrwienie jak i hartowania przez odległe niedokrwienie. Podkreśla, że mechanizmy leżące u podstawy działania hartowania przez niedokrwienie są skomplikowane i nie do końca poznane. Omawia chemiczne, molekularne i hormonalne ścieżki wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału wywołanego przez hartowanie przez niedokrwienie posiłkując się jasnymi schematami na rycinach. Następnie przybliży zjawisko hartowania przez odległe niedokrwienie, które jest zdecydowanie mniej intuicyjne, a w uproszczeniu polega na wywoływania niedokrwienia w innym obszarze naczyniowym niż interesujący nas obszar, w którym chcemy uzyskać efekt hartowania. Podkreśla, że aby protekcyjny wpływ krótkotrwałego niedokrwienia zadziałał na narządy odległe, muszą zostać uruchomione mechanizmy, które bodziec ten dostarczą do narządów efektorowych. Wymienia i szczegółowo opisuje, w tym na dobrze i jasno wykonanych schematach, trzy główne drogi przekazywania sygnału: ścieżkę hormonalną, ścieżkę neuronalną oraz ścieżkę transformacji genetycznych. Ponadto we wspomnianej publikacji pogładowej Doktorantka

zebrała i omówiła wykorzystanie hartowania przez niedokrwienie w badaniach klinicznych oraz przedstawiła jego potencjalne kliniczne zastosowania.

Następnie Doktorantka omawia w sposób precyzyjny i usystematyzowany definicje, przyczyny, czynniki ryzyka, znaczenie kliniczne i metody zapobiegania ostremu uszkodzeniu nerek. W szczególności koncentruje się na problemie wczesnego wykrywania AKI za pomocą biomarkerów, które pozwoliłyby zdiagnozować AKI dużo wcześniej, nawet w przeciągu kilku godzin od zadziałania czynnika uszkadzającego. Podkreśla tu potencjalną rolę lipokaliny neutrofilowej związanej z żelatynazą (NGAL), która zdecydowanie wyróżnia się, będąc jedną z najlepiej poznanych cząsteczek, dającą największe nadzieje na zastosowanie jako marker wczesnej detekcji AKI w praktyce klinicznej.

Wprowadzenie do tematu rozprawy doktorskiej jest napisane w sposób przejrzysty, wyraźnie sygnalizując zainteresowania badawcze autorki i stwarza podstawę do jasno sformułowanych założeń pracy, które Doktorantka przedstawia w krótkim i rzeczowym uzasadnieniu konkludując, że jej praca doktorska jest próbą znalezienia odpowiedzi na pytanie czy hartowanie przez odległe niedokrwienie może stanowić dodatkową metodę nefroprotekcijną. Po czym formułuje osiem dobrze wybranych choć bardzo szczegółowych celów:

1. Ocena częstości występowania ostrego uszkodzenia nerek u pacjentów poddawanych planowej operacji kardiochirurgicznej (OPCAB).
2. Ocena wpływu hartowania przez odległe niedokrwienie na występowanie ostrego uszkodzenia nerek u pacjentów poddawanych planowej operacji kardiochirurgicznej.
3. Ocena wpływu hartowania przez odległe niedokrwienie u pacjentów poddawanych planowej operacji kardiochirurgicznej na konieczność stosowania terapii nerkozastępczej, długość wentylacji mechanicznej, długość hospitalizacji w oddziale intensywnej terapii, długość hospitalizacji i śmiertelność.
4. Ocena przydatności osoczowego stężenia NGAL, oznaczanego w 3-ciej godzinie po zakończonej planowej operacji kardiochirurgicznej, w rozpoznawaniu ostrego uszkodzenia nerek.
5. Ocena częstości występowania ostrego pokontrastowego uszkodzenia nerek u pacjentów poddawanych planowej angiografii wieńcowej z następczą angioplastyką wieńcową.

6. Ocena wpływu hartowania przez odległe niedokrwienie na występowanie ostrego pokontrastowego uszkodzenia nerek.
7. Ocena wpływu hartowania przez odległe niedokrwienie na konieczność stosowania terapii nerkozastępczej, występowanie wstrząsu kardiogenego i śmiertelność wśród pacjentów poddawanych planowej angiografii wieńcowej z następczą angioplastyką wieńcową.
8. Ocena przydatności osoczowego stężenia NGAL, oznaczanego w 3-ciej godzinie od narażenia na kontrast radiologiczny, w rozpoznawaniu nefropatii pokontrastowej.

Następnie lek. Karolina Stokfisz przedstawia i omawia trzy publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, w tym omówioną już wcześniej w recenzji pracę poglądową i dwie prace oryginalne.

W pierwszej pracy oryginalnej (*The clinical utility of remote ischemic preconditioning in protecting against cardiac surgery-associated acute kidney injury: A pilot randomized clinical trial*), Doktorantka badała wpływ hartowania przez odległe niedokrwienie (RIPC) na występowanie ostrego uszkodzenia nerek związanego z operacją kardiologiczną (CSA-AKI). W roku 2014 zrandomizowała 28 pacjentów (14 pacjentów w grupie RIPC i 14 pacjentów w grupie kontrolnej) poddawanych planowej chirurgicznej rewaskularyzacji mięśnia serca bez użycia krążenia pozaustrojowego (OPCAB). Hartowanie przez odległe niedokrwienie polegało na wykonaniu 3 cykli 5-cio minutowej inflacji do 200 mmHg mankietu założonego na lewe ramię po indukcji znieczulenia przed rozpoczęciem operacji. Wykazała, że AKI rozwijało się istotnie statystycznie rzadziej u pacjentów poddawanych RIPC w porównaniu z grupą kontrolną i pacjenci ci mieli istotnie niższy NGAL w 3-ciej godzinie po przebytej operacji w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto analiza wartości przesączania kłębuszkowego (eGFR) u pacjentów poddawanych RIPC nie wykazała różnic statystycznych na przestrzeni czasu, w przeciwieństwie do pacjentów z grupy kontrolnej, w której zaobserwowano istotny spadek wartości eGFR 48 godzin po zabiegu chirurgicznym z ponownym wzrostem przy wypisie.

W drugiej pracy oryginalnej (*Remote Ischemic Preconditioning and Contrast-Induced Acute Kidney Injury in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention – randomized clinical trial*), będącej naturalną kontynuacją jej badań, Doktorantka oceniała wpływ hartowania przez odległe niedokrwienie na częstość występowania ostrego pokontrastowego uszkodzenia nerek (CI-AKI) u pacjentów poddawanych planowej

koronarografii z następczą angioplastyką wieńcową w latach 2015-2018, stosując podobną metodykę RIPC jak w badaniu poprzednim, z tym że wykonywano tu cztery 5-cio minutowe inflacje mankieta do 200 mmHg na lewym ramieniu przed zabiegiem. Wśród zrandomizowanych 101 pacjentów włączonych do badania (50 w grupie poddawanej RIPC i 51 w grupie kontrolnej), nie stwierdzono wpływu RIPC na częstość występowania AKI. Warto przy tym zwrócić uwagę, że AKI rozwinęło się tylko u 5 pacjentów, w tym 2 z grupy RIPC. Ponadto, zarówno w grupie poddawanej RIPC jak i grupie kontrolnej, obserwowano podobny poziom NGAL trzy godziny po zabiegu angioplastyki wieńcowej. Natomiast u pacjentów, którzy rozwinęli AKI, zarówno w grupie RIPC jak i w grupie kontrolnej, stwierdzono podwyższone stężenie NGAL. Zaobserwowano również, że osoczowe stężenie NGAL przy przyjęciu do szpitala korelowało z eGFR.

Obu pracom towarzyszy zwarta i dobrze przeprowadzona dyskusja uzyskanych wyników w aspekcie wcześniejszych doniesień co świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do pracy naukowej i jej usystematyzowanej wiedzy w podjętej tematyce badań.

W tym miejscu chciałbym zwrócić uwagę, iż rzadko mam okazję recenzować rozprawę doktorską, w której zawarte są dwa badania kliniczne z interwencją, randomizowane i zaślepienie. Zaplanowanie, zaprojektowanie i przeprowadzenie takich badań wymaga zarówno dużej wiedzy i znajomości warsztatu naukowca jak i zaangażowania osobistego oraz całego zespołu badawczego. Tym samym bardzo wysoko oceniam dokonania lek. Karoliny Stokfisz w procesie realizacji badań przedstawionych do oceny.

Jednocześnie Doktorantka jest świadoma ograniczeń dokonanych analiz, gdyż pomimo interesujących i obiecujących wyników jej badań, wskazuje, że należy traktować je z najwyższą ostrożnością, ponieważ zostały przeprowadzone na niewielkiej liczbie pacjentów. Odpowiednie ograniczenia przedstawia w stosownych podrozdziałach opublikowanych prac. Podkreśla również, że niezbędne są dalsze badania w tej dziedzinie, na większych grupach chorych, aby móc potwierdzić jej wstępne ustalenia. Świadczy to o jej dojrzałości naukowo-badawczej.

Na podstawie przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników lek. Karolina Stokfisz sformułowała osiem wniosków, które odpowiadają na postawione cele pracy doktorskiej:

1. CSA-AKI jest częstym (60.7%) powikłaniem u pacjentów poddawanych planowej operacji kardiochirurgicznej (OPCAB).

2. Hartowanie przez odległe niedokrwienie jako dodatkowa metoda nefroprotekcyjna istotnie zmniejsza częstość występowania CSA-AKI u pacjentów poddawanych planowej operacji kardiochirurgicznej (OPCAB).
3. Hartowanie przez odległe niedokrwienie w grupie pacjentów poddawanych planowej operacji kardiochirurgicznej (OPCAB) nie wpływa na konieczność stosowania terapii nerkozastępczej, długość wentylacji mechanicznej, długość hospitalizacji w oddziale intensywnej terapii, długość hospitalizacji i śmiertelność.
4. Oznaczanie osoczowego stężenia NGAL u pacjentów poddawanych planowemu zabiegowi chirurgicznej rewaskularyzacji mięśnia serca może być przydatne w diagnozowaniu pooperacyjnego uszkodzenia nerek.
5. Obecnie, w dobie nowoczesnej diagnostyki hemodynamicznej, CI-AKI jest rzadkim (4.95%) powikłaniem u pacjentów z niskim lub umiarkowanym ryzykiem rozwinięcia AKI oraz odpowiednio przygotowanych do badania z użyciem kontrastu wewnątrznaczyniowego.
6. Hartowanie przez odległe niedokrwienie jako dodatkowa metoda nefroprotekcyjna nie zmniejsza częstości występowania CI-AKI u pacjentów poddawanych planowej angioplastyce wieńcowej, mających niskie lub umiarkowane ryzyko rozwinięcia AKI.
7. CI-AKI u pacjentów z niskim lub umiarkowanym ryzykiem rozwinięcia AKI, odpowiednio przygotowanych do badania z użyciem kontrastu wewnątrznaczyniowego, ma przebieg łagodny. Chorzy, niezależnie czy zastosowano czy nie hartowanie przez odległe niedokrwienie, nie wymagają zastosowania terapii nerkozastępczej.
8. U pacjentów poddawanych planowej angioplastyce wieńcowej oznaczanie osoczowego stężenia NGAL może być wykorzystane w diagnozowaniu CI- AKI. Za nieprawidłowe należy uznać stężenie 118.9 ng/ml lub wyższe.

Dla Recenzenta najważniejszym pytaniem, które pojawia się po analizie wyników przedstawionych analiz jest ich rozbieżność w aspekcie skuteczności procedury hartowania przez odległe niedokrwienie u chorych poddawanych operacjom kardiochirurgicznym i zabiegom przezskórnym z wykorzystaniem kontrastu. Wprowadź Doktorantka szczegółowo wyjaśnia te aspekty, tym niemniej chciałbym postawić tu następujące pytania:

- Czy i w jakim stopniu odmienne definicje ostrego uszkodzenia nerek zastosowane w dwóch badaniach mogły przyczynić się do wystąpienia różnych statystycznie wyników jak również przedstawionego odsetka chorych, u których wystąpiło AKI?
- Czy Doktorantka planuje kontynuację badań nad skutecznością hartowania przez odległe niedokrwienie w zapobieganiu CI-AKI w grupie chorych o wyjściowo wyższym ryzyku wystąpienia tego powikłania? Mówiąc inaczej, czy doktorantka nadal pokłada nadzieję w skuteczności tej metody i możliwości jej wprowadzenia do praktyki klinicznej być może w innej niż w przeprowadzonym badaniu podgrupie chorych poddawanych zabiegom kardiologii interwencyjnej z zastosowaniem kontrastu?
- Czy podwyższone osoczowe stężenie NGAL przed planowaną operacją kardiochirurgiczną lub zabiegiem z zastosowaniem kontrastu może być potencjalnie przydatnym kryterium włączenia przyszłych badań nad zastosowaniem różnych strategii prewencji ostrego uszkodzenia nerek?

Przedstawione powyżej pytania są bardziej konsekwencją uzyskanych przez Doktorantkę wyników i próbą zgłębienia tematu i nie umniejszają w żadnym stopniu dokonań lek. Karoliny Stokfisz jak i dużej wartości poznawczej przedstawionego w rozprawie doktorskiej jej dorobku naukowo-badawczego. Jest on wysoce oryginalny oraz interesujący zarówno z naukowego jak i praktycznego punktu widzenia. Całokształt rozprawy doktorskiej oceniam pozytywnie i wysoko.

Podsumowując, w mojej ocenie przedstawiona rozprawa doktorska lek. Karoliny Stokfisz spełnia wszystkie 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 z pełnym przekonaniem wnoszę do Wysockiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarz Karoliny Stokfisz do dalszych etapów przewodu doktorskiego i jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

