

Katowice, 19.09.2022 r.

Ocena

rozprawy doktorskiej lekarza Magdaleny Świstek z Kliniki Chorób Wewnętrznych i Farmakologii Klinicznej Katedry Chorób Wewnętrznych i Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
zatytułowanej: „Ocena właściwości plejotropowych empagliflozyny w modelu uszkodzenia śródbłonna naczyńowego utlenionym cholesterolem i u pacjentów c cukrzycą typu 2 z niewydolnością serca”

Klinika
Chorób Wewnętrznych
i Farmakologii Klinicznej
Katedry Farmakologii

40-752 Katowice,
ul. Medyków 18
www.sum.edu.pl

KIEROWNIK KATEDRY I KLINIKI
prof. Bogusław Okopień
bokopien@sum.edu.pl

SEKRETARIAT KATEDRY
tel.: +48 32 252 39 02
fax: +48 32 288 85 32
farmklin@sum.edu.pl

SEKRETARIAT KLINIKI
tel.: +48 32 789 43 40
fax: +48 32 789 43 43
cwfr@uick.katowice.pl



Układ rozprawy liczy 77 stron, jest typowy i składa się ona ze wstępu, wyodrębnionych założeń i celu pracy, opisu materiału badawczego, przebiegu hodowli komórkowej oraz wykonanych procedur klinicznych i laboratoryjnych. Prezentację wyników w dysertacji wzbogacono tabelami, wykresami i rycinami dobrze dokumentującymi podstawy badania i układ eksperymentu. Następnie Doktorantka formułuje wnioski odpowiadające celom pracy. Na zakończenie Autorka wymienia ograniczenia swoich badań i przeprowadza rzeczową dyskusję.

Kandydatka w treści rozprawy powołuje się na 147 pozycji precyzyjnie dobranej aktualnego piśmiennictwa w przeważającej mierze z ostatnich lat. Dla lepszej orientacji czytelnika zamieszczono również wykaz skrótów, spis dokumentacji oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Dysertację dostarczono do opiniowania zarówno w formie wydrukowanej, jak i na nośniku elektronicznym.

Głównym zagadnieniem poszukiwań naukowych lekarza Magdaleny Świstek jest ustalenie czy empagliflozyna wywiera dodatkowe efekty farmakodynamiczne oprócz zwiększenia glikozurii, zmniejszenia masy ciała i obniżenia ciśnienia tętniczego. Doktorantka zrealizowała ten cel zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* oceniając działania przeciwzapalne, jak i przeciwutleniające empagliflozyny. Wykazała także protekcyjne mechanizmy tej flozyny przed uszkodzeniem kwasów nukleinowych.

Kandydatka na wstępie dokładnie przedstawia uwarunkowania patofizjologiczne cukrzycy koncentrując się szczególnie na upośledzeniu funkcji śródbłonna naczyniowego. Mechanizmy te umiejętnie łączy z mikro- i makroangiopatią cukrzycową prowadzącymi do powikłań sercowo-naczyniowych cukrzycy. W ten sposób płynnie przechodzi do niewydolności serca na tle kardiomiopatii cukrzycowej, czy choroby wieńcowej i dyslipidemii.

Następnie Doktorantka podsumowuje aktualny stan wiedzy na temat kotransporterów sodowo-glukozowych i ich inhibitorów. Ciekawie opisuje istotne znaczenie tych inhibitorów w leczeniu cukrzycy. Zwraca uwagę doskonałą znajomość tej tematyki co pozwala na scharakteryzowanie podobieństw i różnic pomiędzy poszczególnymi flozynami. Wreszcie co jest zupełnie zgodne z logiką wyводу czytelnik znajdzie fragment poświęcony stosowaniu empagliflozyny w niewydolności serca. Odrębne miejsce poświęca Doktorantka analizie stanu zapalnego i uszkodzeń DNA w przebiegu cukrzycy.

W oparciu o ten wartościowy wstęp lekarz Magdalena Świstek formułuje założenia pracy wskazując na wielokierunkowe aspekty działania empagliflozyny. Później stawia sprecyzowane cele badawcze dla procedur laboratoryjnych i badań klinicznych co posłużyło do zarysowania hipotez badawczych.

Podano numer i datę pozytywnej decyzji Komisji do spraw bioetyki badań naukowych przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi.

Kandydatka wykorzystwała komórki śródbłonna naczyniowego żyły pępowinowej (HUVEC) inkubowane z 25-hydroksycholesterolem celem generowania aktywnych postaci tlenu.

Następnie Doktorantka opisuje część kliniczną badania z podaniem zgody Komisji Bioetyki i źródeł finansowania. Podaje kryteria włączenia i wyłączenia chorych oraz wykonywane badania kliniczne i laboratoryjne.

Pani Magdalena Świstek detalicznie komentuje wykorzystane przez siebie metody badawcze. Opis zastosowanych procedur jest skrupulatny i uporządkowany. Podano charakterystykę oraz sekwencję nukleotydowe starterów zastosowanych w reakcji Real-Time PCR.

W analizie statystycznej oceniono rozkład danych, a następnie wykorzystano odpowiednie testy. Podano program komputerowy za pomocą którego analizy zostały przeprowadzone.

Wyniki zaprezentowano na trzynastu stronach przeplatając je wykresami i tabelami co znacznie ułatwiło zapoznanie się recenzenta z otrzymanymi danymi liczbowymi. Zdjęcia DNA

(analizowanego za pomocą testu kometowego) komórek HUVECs wykonane w mikroskopie fluorescencyjnym (program LUCIA) zamieszczono na rycinie 1 (str. 50).

Przeprowadzona przez Panią Magdalenę Świstek dyskusja jest wyczerpująca i ścisła. Autorka bardzo dobrze wiąże swoje obserwacje z umiejętnie dobranym najnowszym piśmiennictwem. Chronologia prowadzonego dyskursu dokładnie odpowiada biegowi wykonanego eksperymentu. Ten porządek jest ważny, bowiem pozwala zachować logiczny ciąg interpretacji uzyskanych wyników. Szczegółowo uzasadnia wybór stężeń empagliflozyny w modelach eksperymentalnych. Ponadto Kandydatka tłumaczy te, a nie inne decyzje metodyczne, wiąże rodzaje wybranych komórek z zastosowaną techniką badawczą, tłumaczy zawilości aktywacji w płynach inkubacyjnych oraz poszukiwanie własnych procedur doświadczalnych. Doktorantka z dużą łatwością wiąże obserwacje z eksperymentów na liniach komórkowych z danymi z badań przedklinicznych, badań obserwacyjnych, czy wreszcie randomizowanych prób klinicznych. Szczególne miejsce tego wywodu zajmują uszkodzenia DNA, którym Kandydatka z pasją badawczą się przygląda. Reasumując Autorka rozprawy dyskutuje swoje wyniki w odniesieniu do wielu danych potwierdzających plejotropowe działanie inhibitorów kotransportera sodowo-glukozowego typu 2.

Na stronie 52 rozprawy Doktorantka próbuje dostrzec ograniczenia swoich badań. Dotyczą one zwłaszcza części klinicznej i wiążą się z krótkim czasem stosowania empagliflozyny, małą liczebnością grupy badanej, jak i brakiem jej jednorodności. Także wachlarz badań na komórkach jednojądrzastych izolowanych z krwi obwodowej był węższy niż w przypadku komórek linii HUVEC. Ten fragment zasługuje na uznanie, ponieważ zdolność krytycznego spojrzenia na własne osiągnięcia to trudny, a zarazem ważny dowód dojrzałości naukowej.

Praca jak można było oczekiwać jest wartościową kontynuacją kierunku badań Promotora Pani Profesor Marleny Broncel nad złożonym tłem molekularnym zaburzeń metabolicznych wiodącym do szeregu chorób układu krążenia. Bezpośrednio o wykorzystaniu dorobku macierzystego ośrodka świadczą cytacje publikacji (96, 122, 141 itd.).

W tak starannie przygotowanym opracowaniu trudno znaleźć niedociągnięcia umniejszające wartość pracy. Niemniej jednak recenzent farmakolog nie może nie zadać pytania o leczenie chorych na cukrzycę włączonych do przeprowadzonego badania. A zatem czy empagliflozyna była stosowana w mono- czy politerapii cukrzycy. Pytanie nie jest tylko czystą ciekawością, bowiem Autorka cytując pozycję 143 zwraca uwagę na protekcyjny synergizm empagliflozyny i metforminy, co prawda w cukrzycy typu 1.

Na stronie 33 Doktorantka dowodzi dlaczego zastosowała komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC). Istnieją jednak metody pozwalające izolować jedynie limfocyty, bądź monocyty. Czy rozważano ich wykorzystanie?

W konkluzji stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca doktorska została dobrze wykonana. Wnosi ona ważne i nowe informacje do naszej wiedzy na temat pleiotropowych działań empagliflozyny w zaburzeniach metabolicznych towarzyszących chorobom serca i naczyń. Otrzymane wyniki powinny zaowocować projektami prób klinicznych w celu potwierdzenia tych działań u chorych.

Lekarz Magdalena Świstek wzorowo opracowała różnorodny i nowoczesny metodyczny warsztat naukowy oraz wykazała się umiejętnością opracowania i interpretacji uzyskanych obszernych danych eksperymentalnych.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 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.).

**Zatem mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu
Medycznego w Łodzi
wniosek o dopuszczenie**

Pani Magdalena Świstek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie stawiam i gorąco popieram wniosek o wyróżnienie ocenionej pracy po spełnieniu wymogów formalnych obowiązujących w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi.

KIEROWNIK
Katedry Farmakologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
prof. dr hab. n. med. Bogusław Okopień