

22. 12. 2021

Dziekanat Wydziału Nauk o Zdrowiu

L.dz.

17.12.2021

Prof. dr hab. med. Irena Ponikowska

Recenzja

Rozprawa na stopień doktora nauk o zdrowiu mg Anny Wieczór pt" Asymetryczna dimetylarginina(ADAMA) a angiogeneza w cukrzycy typu 2"

Przedstawiona do oceny praca została zaprojektowana i wykonana pod kierunkiem naukowym niezwykle doświadczonego naukowca- Prof. Danutę Rość

Powikłania naczyniowe u chorych na cukrzycę stanowią najważniejszy problem współczesnej diabetologii. Prowadzą one często do niesprawności i nawet kalectwa. Mimo wielu prowadzonych badań nadal nie jest w pełni poznana etiopatogeneza tych powikłań. Ważnym czynnikiem etiopatogenetycznym angiopatii cukrzycowej jest upośledzenie funkcji śródbłonna wywołane hiperglikemią, ale wiemy że sama hiperglikemia chociaż bardzo ważna nie zawsze jest przyczyną powikłań cukrzycowych.

Doktorantka i Promotor wybrały ciekawy problem, zgłębiając się w patogenezę powikłań naczyniowych w cukrzycy badając marker uszkodzenia funkcji śródbłonna będący inhibitorem tlenku azotu- dimetylargininę(ADMA) oraz kluczowego czynnika procesu angiogenezy- naczyniowo-śródbłonkowego czynnik wzrostu- VEGF. Badanie tych czynników i ich inhibitorów w kontekście chorób współistniejących i powikłań cukrzycowych u chorych na cukrzycę było przedmiotem i celem badań

Rozprawa ma układ typowy dla prac doktorskich. Napisana została niezwykle starannie pod względem edytorskim, dobrą polszczyzną. Liczy sobie łącznie 106 stron, obejmujących 10 rozdziałów i załączniki: zgodę komisji bioetycznej i objaśnienia używanych skrótów. Zachowana została proporcja objętościowa między poszczególnymi rozdziałami.

We wstępie obejmującym 23 strony Doktorantka podaje podstawowe dane o cukrzycy, a zwłaszcza w zakresie patogenezy dysfunkcji śródbłonna w przebiegu tej choroby. Najwięcej miejsca poświęca (i słusznie) problematyce asymetrycznej dimetylargininie (ADMA) opisując proces jej tworzenia i metabolizowania oraz roli w patogenezie uszkodzenia śródbłonna. Następnie zajmuje się procesem angiogenezy opisując czynniki pro- i antyangiogenne. Jednym z ważnych czynników proangiogennych jest naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu(VEGF), który jest również przedmiotem badań w niniejszej pracy. Czynnik ten wraz z odpowiednimi receptorami opisuje bardzo dokładnie z dużą znajomością problemu. Receptory VEGF występują w 2 postaciach- stacjonarnej i krążącej. Na powierzchni śródbłonna znajduje się receptor stacjonarny sVEGF –R1 i sFEGF R-2 oraz drugi receptor w formie rozpuszczalnej krąży we krwi. U chorych na cukrzycę proces

angiogenezy jest upośledzony. Obserwujemy zwykle u chorych na cukrzycę podwyższone stężenie ADMA i obniżenie tlenku azotu(NO) oraz wzrost VEGF-A, z towarzyszącą hiperglikemią. W pracy tej Doktorantka zamierza zbadać zależność między stężeniem ADMA jako markiera uszkodzenia funkcji śródbłonna a stężeniem VEGF-A – czynnika proangiogenego u chorych na cukrzycę. Uszkodzenie śródbłonna oraz zaburzenie angiogenezy występuje u chorych na cukrzycę typu 2 w wyniku hiperglikemii i hipoksji. Mało poznane są relacje między ADMA i VEGF. Wstęp napisany jest bardzo interesująco z dużą znajomością podejmowanej tematyki. Doktorantka wykazała się dużą znajomością literatury z zakresu cukrzycy, powikłań naczyniowych, procesu angiogenezy i zaburzeń funkcji śródbłonna.

Cel Doktorantka sformułowała zgodnie z tematem pracy w sposób opisowy, chociaż moim zdaniem bardziej przejrzyste byłoby ujęcie celu w punktach(cele podstawowe i szczegółowe). Ułatwiłoby to w końcu pracy prawidłowe sformułowanie wniosków, które powinny odpowiedzieć czy cel i założenia pracy zostały w pełni zrealizowane.

Materiał i metodyka

Materiał i metodyka to następny rozdział rozprawy, obejmujący 7 stron. Materiał chorych obejmuje 123 pacjentów, w tym grupa chorych na cukrzycę typu 2 – 61 osób i grupa zakwalifikowana jako prediabetes 62 osoby oraz 30 osób grupy kontrolnej. Na uwagę zasługuje staranne dobranie grup chorych co do liczby i stanu klinicznego oraz szeroki wachlarz przeprowadzonych badań. Chorzy na cukrzycę leczeni byli tylko metforminą lub metforminą z insuliną. Chorzy na cukrzycę typu 2 mieli dobrze wyrównaną metabolicznie chorobę, chorowali stosunkowo krótko na cukrzycę (Średnio 7 lat), nie mieli ciężkich powikłań. Chorzy z grupy prediabetes przyjmowali Metforminę. W materiale chorych oceniono występowanie powikłań i chorób współistniejących. Materiał chorych został dobrze dobrany, starannie przebadany klinicznie, co pozwoliło na przeprowadzenie wiarygodnej analizy statystycznej

W metodyce opisano zastosowane metody badań analitycznych: ADMA, DDHA-1, DDHA-2, VEGF-A, sVEGF-R1, sVEGF-R2, HbA1c, glikemii, kreatyniny, e-GFR. LDL. TG. Poza tym opisano dokładnie zastosowane metody statystyczne.

Wyniki Doktorantka przedstawiła na 20 stronach, w tym na 17 tabelach i 14 rycinach. W badaniach wykazała wielokrotnie wyższe stężenie ADMA- endogennego inhibitora śródbłonkowej frakcji syntezy NO u chorych na cukrzycę kliniczną i w grupie prediabetes. U chorych na cukrzycę dodatkowo istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej było stężenie enzymu DDAH2. Obliczony współczynnik ADMA/DDHA-1 i DDAH-2 były również istotnie wyższe w grupie cukrzycowej i prediabetes, w stosunku do grupy kontrolnej. Wyniki te świadczą o występowaniu dysfunkcji śródbłonna u chorych na cukrzycę i co ciekawe nawet w okresie prediabetes. Jeżeli dodatkowo uwzględnimy działanie hiperglikemii prowadzącej do stresu oksydacyjnego przewlekłego stanu zapalnego to zrozumiałe staje się występowanie powikłań często już w momencie diagnozowania cukrzycy. Jako diabetolog wysoko cenię wykazanie wysokiego stężenia ADMA w okresie prediabetes, co po części może wyjaśnić obserwowane wczesne występowanie dysfunkcji śródbłonna i wczesne powstawanie

powikłań u chorych na cukrzycę, przynajmniej u części chorych. Zwrócić należy jednak uwagę, że w wielu chorobach i zaburzeniach poza cukrzycą występuje wysokie stężenie ADMA w tym zwłaszcza w otyłości. W badanym materiale chorych na cukrzycę większość pacjentów miała nadwagę i otyłość, co może mieć dodatkowy wpływ na wysokie stężenie ADMA. Obok wysokich wartości ADMA u chorych na cukrzycę stwierdzono również wysokie wartości enzymu DDAH2 pochodzącego ze śródbłonna, co jest dość trudne do wyjaśnienia. Doktorantka tłumaczy to reakcją kompensacyjną organizmu na wysokie stężenie ADMA

W zakresie badań angiogenezy wykazano w pracy wysokie stężenie VEGF-A oraz sVEGF-R1 w grupie chorych na cukrzycę i prediabetes, w stosunku do grupy kontrolnej, co wskazuje na pobudzenie angiogenezy spowodowanej prawdopodobnie hipoksją. VEGF-A jest główną cytokiną odgrywającą kluczową rolę w rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej. Z drugiej strony stwierdzono wysokie wartości receptora krążącego sVEGF-R1 w cukrzycy i prediabetes co świadczy o hamowaniu VEGF-A i obniżeniu jej w naczyniach. W tych warunkach następuje zwiększenie dostępności VEGF dla formy stacjonarnej receptora VEGF-R, co w konsekwencji prowadzi do blokowania angiogenezy u chorych na cukrzycę. Doktorantka stara się to zjawisko wytłumaczyć reakcją kompensacyjną na wysokie stężenie VEGF-A. Natomiast stwierdzone prawidłowe stężenie receptora VEGF-R2 przy równoczesnym wysokim stężeniu VEGF-A u chorych na cukrzycę zdaniem Autorki świadczy o tym, że angiogeneza nie jest skutecznie hamowana u tych chorych. Całość wyników badań Doktorantka przedstawiła w pracy w sposób jasny i uporządkowany, Co nie było łatwe przy tak dużej liczbie parametrów klinicznych i biochemicznych, które ze sobą korelowała.

Omówienie wyników i dyskusja obejmuje 17 stron rozprawy. Dyskusja zawiera wiele informacji literaturowych i własnych poglądów. Wyniki omawia i komentuje, wyjaśnia i stawia własne hipotezy. Co świadczy o dużej dojrzałości badawczej Doktorantki. Własne wyniki porównuje z wynikami badań innych autorów.

Z praktyki diabetologicznej wiemy, że powikłania naczyniowe mogą pojawiać się wcześniej i szybko postępować u niektórych pacjentów. Nie zawsze jest to zależne od występowania hiperglikemii, możliwe że u tych pacjentów występują zaburzenia uwarunkowane genetycznie ze wzmożonym stężeniem ADMA. Uzyskanie z kolei wysokich wartości VEGF-A i ADMA w grupie prediabetes może po części sugerować przyczynę wczesnego występowania powikłań naczyniowych u niektórych chorych na cukrzycę nawet jeszcze przed ostatecznym jej rozpoznaniem. Uważam że z punktu widzenia praktycznego te informacje w recenzowanej pracy mają największą wartość.

W oparciu o uzyskane wyniki badań Doktorantka wyciąga **5 wniosków**, wszystkie są słuszne, ale najważniejszy wniosek powinien odpowiedzieć na pytanie czy cel pracy został zrealizowany czyli wykazanie zależności lub jej braku między stężeniem ADMA, DDAH-1 i DDAH-2 a czynnikami angiogenezy tj VEGF-A i sVEGF-R1 i sVEGF-R2. Punkt piąty wniosków o brzmieniu „współistnienie wysokiego stężenie ADMA i VEGF-A sugeruje dysregulację procesu angiogenezy u badanych chorych na cukrzycę” po części odpowiada na postawiony cel pracy. Jeżeli tak jest powinien to być pierwszy najważniejszy wniosek.

Rozprawa poza tym ,obejmuje krótkie streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografie, która obejmuje 217 pozycji. Piśmiennictwo zebrane zostało starannie, większość artykułów pochodzi z ostatniego 10-lecia. Wszystkie pozycje zostały zacytowane we wstępie i dyskusji.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że praca jest wartościowa, dobrze zaplanowana i wykonana, zawiera obszerny materiał i wyniki. Drobne moje uwagi nie zmniejszają jej wartości.

Stwierdzam zatem , że rozprawa doktorska mgr Anny Wieczór pt.” Asymetryczna dimetylarginina (ADMA) a angiogeneza w cukrzycy typu 2” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, Doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną w dyscyplinie oraz posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia badań, co jest zgodne z art. 13 , ustęp 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003(Dz. U. z 2017, pozycja 1789). Wnioskuje zatem o dopuszczenie do dalszych etapów rozprawy doktorskiej.

Prof. dr hab. med. Irena Ponikowska

