



# INSTYTUT PSYCHIATRII I NEUROLOGII II KLINIKA NEUROLOGICZNA

Kierownik: Prof. dr hab.n.med. Iwona Kurkowska-Jastrzębska

adres: ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa; tel. +48-22-4582537; fax:+48-22-8429322; e-mail: [neuro2@ipin.edu.pl](mailto:neuro2@ipin.edu.pl)



## **Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lekarz Doroty Różański**

**pt:** „Korelacja stężenia cytokin zapalnych z oceną stabilności blaszki miażdżycowej w tętnicach szyjnych u pacjentów z nadwagą i otyłością po udarze niedokrwiennym mózgu o etiologii miażdżycowej.”

**Promotor: dr hab. n. med. Dariusz Kozirowski**

Klinika Neurologii Wydział Nauk o Zdrowiu **Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.**

Przedstawiona do oceny praca została wykonana w Klinice Neurologii Wydziału Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem dr hab. n. med. Dariusza Kozirowskiego. Praca doktorska przedstawiona do oceny jest tradycyjnym manuskrytem obejmującym typowe części: streszczenie, wstęp, opis hipotez i celów badawczych, metodykę, przedstawienie wyników pracy, dyskusję oraz wnioski. Całość liczy 106 stron; obejmuje 42 tabele, 6 rycin oraz 83 pozycje piśmiennictwa jak również wszystkie wymagane załączniki.

### **Problem badawczy**

Rozprawa podejmuje temat wpływu otyłości na rozwój miażdżycy w tętnicach u pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu. Otyłość jest znanym czynnikiem ryzyka udarów mózgu i chorób układu krążenia, min nadciśnienia tętniczego, cukrzycy, dyslipidemii, niewydolności serca. Wiadomo jednak, że nie tylko całkowity nadmiar tkanki tłuszczowej, ale jej rozmieszczenie i rodzaj ma wpływ na ryzyko chorób naczyniowych. Wiąże się je głównie z otyłością brzuszną, która stanowi bezpośrednie obciążenie układu krążenia, jak również z aktywnością metaboliczną trzewnej tkanki tłuszczowej, która ma mieć wpływ na aktywację czynników prozapalnych, uszkadzających śródbłonek i sprzyjających rozwojowi miażdżycy. Doktorantka podejmuje problem powiązania morfologii i stabilności blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych z obecnością otyłości, rodzajem otyłości, ocenionej pomiarem składu ciała metodą bioimpedancji oraz biomarkerami metabolizmu tkanki tłuszczowej u chorych po udarze niedokrwiennym mózgu o etiologii miażdżycowej. Dodatkowo próbuje wykazać, że dla oceny rokowania pacjenta oraz jego dalszego leczenia bardziej wskazane byłoby ocena składu ciała, a nie

wykonywanie pomiarów antropometrycznych, zwracając uwagę na osoby o prawidłowej całkowitej masie ciała, a posiadające nieprawidłową masę tkanki tłuszczowej. Temat jest nowy poprzez zastosowanie oceny blaszek miażdżycowych metodą rezonansu magnetycznego, jak również poprzez jednoczesne zastosowanie zarówno oceny otyłości oraz biomarkerów metabolizmu tkanki tłuszczowej (leptyna, adyponektyna) i przeciwciał anti-oxLDL jako potencjalnego markera stanu zapalnego. Temat jest również niezwykle ważny ze względu na problem społeczny otyłości, rosnącą liczbę ludzi otyłych i rosnącą liczbę chorób powiązanych bezpośrednio lub pośrednio z otyłością.

Podsumowując podjęty przez Doktorantkę problem badawczy rozprawy doktorskiej jest w pełni uzasadniony i nowy.

Cele pracy są poprawnie i jasno sformułowane. Doktorantka dodatkowo formułuje hipotezy badawcze którym prawie w całości odpowiadają zarówno cele pracy jak zastosowane metody badawcze. Pierwsza hipoteza jest bardzo szeroka i nie jest jednak do końca jasne jak Doktorantka chce potwierdzić, że tkanka tłuszczowa ma wpływ na rozwój miażdżycy poprzez nasilenie odpowiedzi zapalnej. Dokładniejszego wyjaśnienia wymaga, jak będzie oceniana odpowiedź zapalna – czy dotyczy to biomarkerów zapalenia czy obecności zapalenia w blaszce miażdżycowej. Również ocena zawartości tkanki tłuszczowej u pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu może mieć większą przydatność niż pomiary antropometryczne dla oceny ryzyka miażdżycy lub stabilności blaszki, ale nie jest do końca jasne jak zostało zaplanowane udowodnienie „większego znaczenia rokowniczego”. Pozostałe hipotezy i cele są bezpośrednio powiązane i jasno zdefiniowane.

### **Strona merytoryczna rozprawy**

**Wstęp.** We wstępie Doktorantka omawia epidemiologię udaru mózgu, klasyfikację i czynniki ryzyka. Dokładnie omawia problem otyłości i zespołu metabolicznego jako czynników ryzyka udaru mózgu i chorób układu krążenia. Otyłość jest istotnie obecnie problemem zdrowotnym na całym świecie, a oprócz chorób układu krążenia wiąże się również z innymi chorobami układu nerwowego jak np. polineuropatia czy zaburzenia pamięci. Elementy składające się na zespół metaboliczny są głównymi czynnikami ryzyka udaru mózgu. Wiadomo, że otyłość brzuszna jest podstawową składową zespołu, a większość chorób i zaburzeń składających się na zespół jest ze sobą ściśle powiązana etiopatologicznie. Samo rozpoznanie zespołu metabolicznego, powinno dawać większy nacisk na leczenie otyłości i chorób z nim związanych. W tym kontekście interesujące jest czy neurologi (też w Polsce) rutynowo rozpoznają zespół metaboliczny u chorych z udarem. Doktorantka omawia również metody pomiaru otyłości, różnice między nimi, wyjaśniając w przekonujący sposób dlaczego podejmuje próbę oceny składu ciała jako lepszego od pomiarów antropometrycznych dla oceny metabolicznej pacjentów.

Wstęp zawiera również omówienie oznaczanych cytokin – leptyny i adyponektyny oraz przeciwciał anty-oxLDL i roli lipoprotein w rozwoju blaszki miażdżycowej.

Należy podkreślić że choć wstęp zawiera wszystkie potrzebne informacje to nie zawsze podane są one w sposób jasny i w logicznym ciągu, utrudniając nieco czytanie. Poza powtórzeniami ogólnych stwierdzeń, brak np. wyjaśniania skrótów w miarę jak się pojawiają oraz definiowania używanych parametrów (np. BF% „Body Fat” - zawartość tłuszczu, na stronie 16 pojawia się w formie skrótu bez wyjaśnienia i bez podania norm choć za chwilę Doktorantka odwołuje się do „normalnego BF%”, a wcześniej bardzo dokładnie opisuje parametr BMI znacznie szerzej znany i stosowany). Brak niektórych skrótów również w liście skrótów w dodatku na końcu pracy – szczególnie dotyczy to np. skrótów będących określeniami parametrów pomiarów składu ciała, a skróty są podane wyłącznie w postaci tłumaczeń bez ich angielskich czy innych odpowiedników. Są to w przewadze kłopoty edytorskie, ale również wprowadzające pewne merytoryczne zamieszanie. Szczególnie niezręczne jest tłumaczenie NWL (wg Doktorantki ‘osoby normalne szczupłe’) tak naprawdę (Normal Weight Lean – osoby szczupłe z prawidłową/normalną wagą). Z innych istotnych braków należy wymienić brak komentarza na temat polskich badań na temat otyłości, które Doktorantka wymienia, a które wydają się być nawet bardziej alarmujące niż dane ogólnoświatowe (zarówno pod względem liczby osób z otyłością jak również ze względu na trendy w ciągu ostatnich 10 lat).

Opis metod pomiarów otyłości zawiera większość wymaganych danych, Doktorantka opisuje i porównuje metody wykazując dobre przygotowanie i znajomość, brak natomiast norm dla opisywanych parametrów co ułatwiłoby dalsze czytanie. W podrozdziale ‘Cytokiny’ Doktorantka opisuje adyponektynę i leptynę dwa białka wydzielane głównie przez komórki tłuszczowe o działaniu pro- i przeciwzapalnym. Za mało dokładnie wydaje mi się Doktorantka opisuje możliwości metaboliczne tkanki tłuszczowej, szczególnie trzewnej, aby udokumentować wybór takich, a nie innych adipokin i biomarkerów pro- czy przeciwzapalnych. Doktorantka opisuje badania w udarze dotyczące obu cytokin, ciekawe byłoby jednak poszukanie czy badano obie adipokiny w odniesieniu do rodzaju i stopnia otyłości, lub zawartości i rodzaju tkanki tłuszczowej. Podsumowując wstęp zawiera wszystkie potrzebne informacje pomimo pewnych nieścisłości opisanych powyżej.

**Materiał i metody** stosowane w pracy są prawidłowo i dokładnie opisane. W każdym podrozdziale są od razu opisane i przedstawione w formie tabel wyniki pomiarów w badanej grupie pacjentów. Ponieważ sposób rekrutacji polegał na kwalifikacji kolejnych pacjentów hospitalizowanych w latach 2016-19 należałoby odnieść się do liczby wszystkich pacjentów z udarem hospitalizowanych w ciągu 4 lat obserwacji i głównych przyczyn braku rekrutacji większej liczby chorych. Choć szeroki i poza rutynowy zakres badań może wyjaśniać mniejsza liczba zrekrutowanych do badania chorych

należałoby o tym wspomnieć. Ciekawe jest czy zakładano minimalną docelową liczbę chorych i co spowodowało, że liczba kobiet jest tak znacząco mniejsza (zważywszy, że w populacji więcej kobiet ma udar i więcej kobiet jest otyłych). Na pewno nierówność grupy powoduje trudności w ocenie statystycznej i na pewno uniemożliwił pełną analizę badanych parametrów osobno w grupie kobiet i mężczyzn. Dodatkowo wskazane byłoby opisanie kolejności wykonywanych pomiarów w stosunku do wystąpienia udaru – oczywiście część parametrów się nie zmienia szybko i domniemyjemy że skala NIHSS opisuje nasilenie maksymalne zespołu neurologicznego, to nie wiemy kiedy oceniano blaszki metodą MRI (jakaś ewolucja zmian może wystąpić) oraz szczególnie istotne jest to dla oceny parametrów biochemicznych, które zmieniają się wraz z czasem od udaru. Niezwykle jest więc ważne, aby podać czas oznaczania w/w parametrów.

Grupa badana jest bardzo dobrze scharakteryzowana pod kątem chorób dodatkowych, cech biometrycznych, a wyniki przedstawione w szeregu tabel. Dokładnie opisane jest obrazowanie rezonansem magnetycznym, ale szkoda że nie ma uzupełnienia graficznego z opisem ocenianych parametrów (czapeczka włóknista, obecność stanu zapalnego, krwawienie, pole powierzchni blaszki i tłuszczu) lub odniesienia np. do publikacji wg, której robiono pomiary. W ilustrowanym rycinami opisie metody pomiaru składu ciała (metoda bioimpedancji elektrycznej) istotnym dodatkiem byłoby odniesienie się do istniejących norm kolejnych parametrów dla płci i wieku i podanie ich dla zakresu wieku badanej grupy. Sama metoda pomiaru i wyniki przedstawione są w dokładny i wyczerpujący sposób. Tak samo dokładnie opisane są metody badań biochemicznych, a wyniki przedstawione w sposób przejrzysty. Analiza statystyczna nie budzi wątpliwości.

**Wyniki** są przedstawione w sposób jasny i uporządkowany.

Zilustrowane są wieloma tabelami pokazującymi uzyskane dane. Doktorantka podzieliła grupę chorych na otyłych i nie otyłych wg zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie (powyżej 25% dla mężczyzn i 30% dla kobiet) co jest przyjętą wg WHO normą. Wg przyjętego podziału i prezentowanych wyników wynika że większość pacjentów nie spełniała definicji otyłości wg BMI – ciekawe jest ilu chorych było otyłych wg obu definicji a ilu nie. Tabela 9 zawiera wszystkie porównywane dane – byłoby łatwiej gdyby podzielić ją na kategorie porównywanych parametrów. Druga analiza jest przeprowadzona z rozdziałem na płć biologiczną i uzyskane dane również przedstawiono w postaci jednej tabeli, a znalezione różnice są spodziewane i potwierdzone w innych pracach. U kobiet stopień zwężenia tętnic szyjnych był większy niż u mężczyzn - co być może wynikało z doboru grupy, jak również poziom leptyny był kilka razy wyższy (ok 7 razy) co wynika z różnic zależnych od płci min hormonów płciowych i większej zawartości tkanki tłuszczowej.

Pole powierzchni blaszki oraz stopień zwężenia tętnic szyjnych korelował z procentową zawartością tłuszczu (%FAT), a stopień zwężenia dodatkowo korelował ujemnie z masą ciała beztłuszczową, podstawową przemianą materii, bezwzględną masą białka i masą mięśni. Poziom adiponektyny nie korelował z parametrami składu ciała, a poziom leptyny i przeciwciał anty-oxLDL z zawartością tłuszczu (%FAT, FAT kg) i BMI. Nie przeprowadzono osobnej analizy wg płci.

Bardzo ciekawe wyniki uzyskano w analizie regresji gdzie pokazano, że zmiana pola powierzchni tłuszczu jest związana z poziomem anty-oxLDL i masą wody (total body water) ciała.

### **Dyskusja wyników i wnioski**

Podstawowym przesłaniem pracy jest stwierdzenie, że zawartość tłuszczu procentowa istotnie koreluje z powierzchnią blaszki miażdżycowej w tętnicach szyjnych i stopniem jej zwężenia, co może wskazywać na potrzebę uwzględnienia tego parametru jako bardziej dokładnego niż BMI dla oceny ryzyka narastania miażdżycy w tętnicach szyjnych. Choć wyniki nie budzą wątpliwości i poparte są innymi publikacjami nie uwzględniono np. pomiaru obwodu pasa w analizach lub współczynnika pas/biodra, który wielokrotnie okazał się lepszy niż BMI dla szacowania ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, miażdżycy, udaru itd. Być może uwzględnienie tego parametru pozwoliłoby na udowodnienie, że np. obwód pasa lub współczynnik pas/biodra jest równie dobry jak ocena składu ciała w rozwoju miażdżycy? Ciekawym wynikiem jest wysoki poziom leptyny w grupie badanej, korelujący z parametrem składu ciała - procentową zawartością tłuszczu. Choć jest to ciekawa obserwacja, w dyskusji Doktorantka pisze, że poziom leptyny wzrasta po udarze, co jest oczywiście nadinterpretacją z powodu braku punktu odniesienia (najlepiej do poziomu przed udarem co oczywiście byłoby niezwykle trudne lub do dobranej grupy kontrolnej z taką samą otyłością, płcią i wiekiem bez udaru lub do jakiegoś innego punktu czasowego po udarze). Tak samo nie wynika z obecnej pracy, jaką wartość miałyby mieć oznaczenie poziomu leptyny dla indywidualnego pacjenta. Jej korelacja z płcią i otyłością daje tylko podstawę do projektowania dalszych badań np. w kontekście ryzyka powtórnego udaru, leczenia otyłości, występowania zespołu metabolicznego itd. Niewątpliwie obecna praca jest ciekawa również pod kątem występowania zespołu metabolicznego – ale Doktorantka nie opisuje wprost czy wszyscy jej badani chorzy mieli zespół metaboliczny (czy np. są to chorzy właśnie z otyłością wyodrębnieni w jej badaniach co można domniemywać z parametrów obwodów pasa chorych i tego, że większość pacjentów ma nadciśnienie i cukrzycę). A jeśli nie, to czy przeprowadzono podobne analizy dla chorych z zespołem metabolicznym i bez zespołu tak jak dla chorych z otyłością i bez otyłości.

Sformułowane na końcu dyskusji wnioski odpowiadają w zasadzie postawionym hipotezom i celom badania, uwzględniają jednak tylko uzyskane wyniki pozytywne. Doktorantka nie formułuje wniosków

będących odpowiedzią na hipotezę 1, 5 i 6. Wniosek 1 odpowiada na hipotezę 2, ale nie uwzględnia pomiarów pasa i współczynnika pas/biodra jak napisałam wcześniej. Wniosek 4 choć z gruntu prawdziwy powinien być zawarty w dyskusji, ponieważ nie odnosi się do wyników przeprowadzonych badań.

#### **Mocne strony pracy**

1. Ciekawy i nowy temat w aspekcie udaru niedokrwiennego. Problem podjęty w pracy jest w dobry sposób uzasadniony.
2. Doktorantka łączy kilka nowoczesnych metod badawczych dla dokładnej oceny oznaczanych parametrów.
3. Poprawne przedstawienie wyników, prawidłowo wykonana analiza statystyczna.

#### **Uwagi i dodatkowe pytania zawarte są w tekście recenzji.**

#### **Konkluzja recenzji**

Stwierdzam, że rozprawa doktorska lekarz Doroty Różański pt: „Korelacja stężenia cytokin zapalnych z oceną stabilności blaszki miażdżycowej w tętnicach szyjnych u pacjentów z nadwagą i otyłością po udarze niedokrwiennym mózgu o etiologii miażdżycowej”, jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę Doktorantki w uprawianej dyscyplinie naukowej (nauki medyczne) oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Jest również samodzielnym dorobkiem naukowym Doktorantki i spełnia warunki określone w art. 13 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 art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.).

Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych WUM o dopuszczenie lekarz Doroty Różański do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Iwona Kurkowska-Jastrzębska

Warszawa 18 sierpnia 2023r.