



Politechnika Łódzka

Instytut Inżynierii Materiałowej
Zakład Biofizyki

O C E N A

pracy doktorskiej Pana mgr Kamila Karolczaka, zatytułowanej: „*Nowe czynniki przyczyniające się do oporności płytek krwi na działanie kwasu acetylosalicylowego*”

Przedstawiona mi do recenzji praca wykonana została w Zakładzie Zaburzeń Krzepnięcia Krwi, Katedry Nauk Biomedycznych, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Cezarego Watały. Praca obejmuje 30 stron maszynopisu, włączając w to streszczenie, bibliografię 70 pozycji piśmiennictwa, a także listę własnego dorobku naukowego, 24 strony zawierające kopie dwóch oryginalnych prac opublikowanych w *Pharmacological Research* (15 stron) i w *Cardiovascular Drugs and Therapy* (9 stron), a także 7 stron oświadczeń współautorów powyższych publikacji zawierających deklarowany udział w przygotowaniu publikacji.

Kwas acetylosalicylowy, popularnie zwany aspiryną, jest chyba najlepiej rozpoznawalnym farmaceutykiem wykazującym dodatkowo bardzo szerokie spektrum aktywności biologicznej. Jednym z bardzo istotnych społecznie zastosowań jest podawanie aspiryny w celu obniżenia ryzyka powstawania blaszki miażdżycowej i rozwoju chorób zatorowo-zakrzepowych, które niestety odpowiedzialne są za bardzo wysoki odsetek zgonów u ludzi w wieku średnim i u starszych. Z punktu widzenia molekularnego mechanizmu uczestniczącego w proces zapobiegania chorobom zatorowo-zakrzepowym wszystko wydaje się być wiadome. Aspiryna nieodwracalnie hamuje enzymatyczną aktywność cyklooksygenazy-1 (COX-1) co skutkuje w zahamowaniu produkcji tromboksanów i obniżeniu aktywacji płytek krwi przez ten związek uwalniany z zaaktywowanych płytek krwi, przy jednoczesnym zachowaniu zdolności do aktywacji i agregacji przez inne aktywatory. Okazuje się jednak, że u pewnej grupy pacjentów przyjmowanie aspiryny w ordynowanych dawkach nie spełnia pokładanych nadziei, co określa się mianem aspirynooporności. W pewnym, ale niewielkim stopniu, za efekt ten odpowiada uwarunkowanie genetyczne.



Instytut Inżynierii Materiałowej, Zakład Biofizyki
90-924 Łódź, ul. Stefanowskiego 1/15, budynek A18
tel/fax 042 631 23 35, e-mail: bogdan.walkowiak@p.lodz.pl

Pozostałe czynniki pochodzenia metabolicznego nie są do końca dobrze zidentyfikowane. Jako czynniki odpowiedzialne wskazuje się zmieniony profil węglowodanów i lipidów obecnych w osoczu pacjentów wykazujących aspirynooporność. Od dość dawna podwyższone ryzyko rozwoju chorób naczyniowych i niewydolności krążenia kojarzone było z podwyższonym poziomem homocysteiny, natomiast bezpośredni wpływ tego aminokwasu na reaktywność płytek krwi poddanych działaniu kwasu acetylosalicylowego nie był do tej pory badany. Równie niedoceniana wydaje się być rola erytrocytów w procesie aktywacji płytek krwi i tworzenia blaszki miażdżycowej. Doktorant postanowił zweryfikować hipotezę badawczą mówiącą o przyczynianiu się homocysteiny i erytrocytów do wzbudzania oporności płytek krwi na hamujące działanie kwasu acetylosalicylowego.

Cel pracy sformułowany został w oparciu bardzo umiejętnie przeprowadzony wywód teoretyczny poparty licznymi i trafnymi odwołaniami do oryginalnych źródeł literaturowych. Choć w odniesieniu do roli erytrocytów wywód ten ma charakter bardziej spekulatywny, to jednak jest przekonujący. Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić jednak uwagę, że wartość hematokrytu odgrywa znaczącą rolę w prawidłowo przebiegającym procesie trombozy. Niska wartość hematokrytu występująca u zanemizowanych pacjentów przyczynia się do występowania skazy krwotocznej. Mechanizm tego procesu tłumaczy się przyosiowym ogniskowaniem dużych elementów morfotycznych, w tym erytrocytów, przez siły wynikające z gradientu prędkości przepływającej krwi i wypychaniem płytek krwi w kierunku odosiowym, czyli w pobliże ściany naczynia krwionośnego. Wydłużenie krzepnięcia krwi przy nieobecności erytrocytów w modelu zwierzęcym, przywołane na stronie 6 w celu wsparcia tezy o prokoagulacyjnych właściwościach erytrocytów, może również wynikać ze zbyt niskiej wartości hematokrytu u tych zwierząt.

Praca ma nietypowy układ edytorski. Materiały, metody, rezultaty oraz w dużej części dyskusja wyników zawarte są w załączonych kopiach opublikowanych prac. Choć nie zwalnia mnie ten fakt z obowiązku oceny metod i rezultatów, to znacznie ułatwia to moje zadanie. Metody badawcze wymienione stronach 10-11 oraz opisane w publikacjach dobrane są właściwie dla zrealizowania postawionego celu. Wyraźnie nowatorskim podejściem metodycznym jest wykorzystanie wieloparametrycznej metody analizy wyników badań i wykazania wzajemnych zależności pomiędzy agregacją płytek krwi po stymulacji kwasem arachidonowym lub kolagenem oraz stężeniem tromboksanu B₂ po dynamicznej aktywacji płytek krwi w warunkach *in vitro*. Podobny układ analityczny wykorzystano w celu wykazania modulującego wpływu homocysteiny na aktywację płytek krwi i ich wrażliwość na hamujące działanie kwasu acetylosalicylowego. Podatność tiolowej i aminowej grupy funkcyjnej homocysteiny do acetylacji działaniem kwasu acetylosalicylowego i bezwodnikiem octowym wykazano metodami spektrofotometryczną, spektrometrii masowej oraz radiometryczną, z

wykorzystaniem w tej ostatniej metodzie specjalnie zsyntetyzowanych żywic osłaniających wybrane grupy funkcyjne aminokwasu.

Metody badawcze i uzyskane wyniki opisane zostały bardzo jasno i uzyskały uznanie recenzentów obu specjalistycznych wydawnictw. Statystyczne metody oceny uzyskanych wyników nie budzą zastrzeżeń. Omówienie uzyskanych wyników spinające w jedną całość obie publikacje przeprowadzone jest jasno i rzeczowo z odwołaniem się do aktualnej literatury, a siedmiopunktowe podsumowanie w sposób uzasadniony wynika z przeprowadzonych badań i omówienia wyników tych badań. Za niezwykle ważne osiągnięcie pracy należy uznać wskazanie homocysteiny jako czynnika przewyższającego swą efektywnością zdefiniowane dotychczas czynniki ryzyka aspirynooporności, takie jak glikemia, niewłaściwy profil lipidowy czy występujący stan zapalny, ale jeszcze ważniejsze wydaje się być wykazanie, że homocysteina wykazuje dwoiste działanie w zależności od zastosowanej dawki, co oznacza możliwość przełamania aspirynooporności poprzez podwyższenie dawki. Może to mieć niebagatelne znaczenie kliniczne.

Stwierdzam, że praca jest bardzo wartościowa i wnosi istotne wartości poznawcze z potencjalną możliwością ich klinicznego zastosowania. Praca spełnia wszystkie wymagania ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Pana mgr Kamila Karolczaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego i nadanie Mu stopnia doktora nauk.

Jednocześnie w uznaniu bardzo wysokich wartości poznawczych z potencjalną możliwością ich klinicznego wykorzystania wnoszę o wyróżnienie ocenianej pracy.

Dobra Nowiny, 26 sierpnia 2014 roku

