WYDZIAŁ LEKARSKI
UNIWERSYTET OPOLSKI

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska, Doktorantki **lek. Katarzyna Konarska-Bajda** pt: „*Wpływ podawania warfaryny, na rozwój i przebieg eksperymentalnego ostrego zapalenia trzustki wywołanego ceruleiną*" pochodzi z Zakładu Fizjologii *Collegium Medicum*, Uniwersytetu Jagiellońskiego. Praca doktorska została wykonana pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Piotra Ceranowicza, autorytetu w dziedzinie nauk medycznych, cenionego naukowca oraz dydaktyka UJ. Promotor posiada imponujący dorobek naukowy, zwłaszcza w kontekście prac doświadczalnych (eksperymentalnych) na modelu zwierzęcym w tym badania stresu oksydacyjnego oraz stanu zapalnego w ostrym zapaleniu trzustki oraz innych schorzeniach przewodu pokarmowego. Promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej jest dr n.med. Jakub Cieszkowski, także ceniony autorytet naukowy i współautor prac naukowych w zakresie wpływu warfaryny oraz acenokumarolu w eksperymentalnym modelu zwierzęcym leczenia ostrego zapalenia trzustki.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja w formie monografii liczy 74 strony wydruku komputerowego. Rozprawa doktorska składa się z opisu dwóch eksperymentów doświadczalnych na modelu szczurzym wchodzącym w skład monografii: *1) eksperyment badający wpływ warfaryny na rozwój oraz 2) przebieg ostrego obrzękowego zapalenia trzustki wywołanego ceruleiną.* Opis monografii kończy podsumowanie pracy doktorskiej w języku polskim i angielskim. Opis samej rozprawy doktorskiej zawiera takie rozdziały jak: wprowadzenie, uzasadnienie i celowość badań, po czym osobno dla każdego z eksperymentów 1 i 2; przedstawiono materiały i metody, opis analizy statystycznej, wyniki, dyskusja oraz wnioski. Doktorantka umieściła także bardzo wartościowy podrozdział zawierający ograniczenia badań, tak bardzo charakterystyczny dla eksperymentalnych prac naukowych mających szanse na kontynuacje w badaniach klinicznych. Na końcu rozprawy doktorskiej umieszczony został spis piśmiennictwa zawierający 132 pozycje literaturowe. Warto podkreślić, że aż ponad 50% pozycji piśmiennictwa pochodzi z ostatnich 10 lat. W opisie monografii, Doktorantka wskazuje, że wyniki przedstawionych w rozprawie doktorskiej badań zostały opracowane i przygotowane w formie dwóch artykułów, które znajdują się aktualnie w recenzji czasopisma „*Biomolecules*" indeksowanym w pubmed oraz znajdującym się na liście JCR. (wydawnictwo: MDPI, IF: 6.064).

Badania zostały przeprowadzone na podstawie wymaganych zgód wyrażonych przez I Lokalną Komisję Etyczną ds. doświadczeń na zwierzętach. Badania, będące podstawą

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

niniejszej rozprawy doktorskiej były także częścią doświadczeń prowadzonych w ramach realizacji projektu badawczego CM UJ pod tytułem „*Rola pochodnych kumaryn w profilaktyce i leczeniu ostrego zapalenia trzustki u szczurów*".

We wprowadzeniu do rozprawy doktorskiej, Doktorantka charakteryzuje proces nadkrzepliwości w przebiegu i rozwoju ostrego zapalenia trzustki, wskazuje na powiązanie procesu zapalnego z aktywacją procesu krzepnięcia w tym schorzeniu. Wskazuje na udział komórek mikrośrodowiska (w tym komórek śródbłonkowych i monocytów obwodowych krwi) w indukcji wewnątrzpochodnej kaskady krzepnięcia (*via* wzrost ekspresji czynnika tkankowego). Przedstawia złożone reakcje między cytokinami prozapalnymi, kaskadą krzepnięcia oraz procesem fibrynolizy. Finalnie, przedstawia dotychczasowe badania, z użyciem innych antykoagulantów w leczeniu i zapobieganiu rozwojowi ostrego zapalenia trzustki (w tym heparyny, zarówno niefrakcjonowanej jak i drobnocząsteczkowej. Wskazuje na różne eksperymentalne modele wywoływania OZT poprzez zastosowanie ceruleiny, żółci, taurocholanów i innych.

Temat badań Doktorantki uważam za ściśle uzasadniony z kilku powodów, po pierwsze nie ma wielu podobnych wyników badań opublikowanych w bazach naukowych w modelach zwierzęcych *in vivo*, po drugie liczne skutki uboczne terapii z użyciem dotychczasowo stosowanych antykoagulantów wskazują na konieczność poszukiwania bezpieczniejszych alternatywnych leków. Po trzecie, obiecujące wyniki eksperymentalne z użyciem warfaryny mogą posłużyć do zaprojektowania randomizowanego badania klinicznego u ludzi oceniającego bezpieczeństwo i skuteczność terapii u pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki wywołanego triglicerydemią (u otyłych) lub w zapobieganiu zapalenia trzustki po wykonaniu endoskopowej wstecznej cholangiopankreatografii.

Doktorantka podjęła się moim zdaniem bardzo ciekawego i trudnego tematu badawczego realizowanego w formie eksperymentów prowadzonych z użyciem modelu zwierząt doświadczalnych.

Celem badań Doktorantki było określenie, czy podawanie warfaryny (antagonista witaminy K, pochodna kumaryny) wpływa na rozwój i przebieg eksperymentalnego zapalenia trzustki wywołanego podaniem ceruleiny. Badania zostały przeprowadzone w dwóch etapach, mających udzielić odpowiedzi na następujące pytania: 1) Czy podawanie warfaryny, przed wywołaniem ostrego zapalenia trzustki, wpływa na rozwój i przebieg tego zapalenia? 2) Jaki jest wpływ warfaryny na rozwój stresu oksydacyjnego w przebiegu ostrego zapalenia trzustki?

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

3) Czy stosowanie warfaryny wpływa na przebieg ostrego zapalenia trzustki i pozapalną regenerację tego narządu? Warfaryna w odpowiednich dawkach (eksperyment 1); [90, 180, 270 µg/kg/dawkę] lub [45, 90 lub 180 µg/kg/dawkę]; (eksperyment 2). Warfaryna była podawana 1 raz dziennie doustnie/dożołądkowo przez 7 kolejnych dni przed wywołaniem ostrego zapalenia trzustki (eksperyment 1). W tym czasie zwierzęta z grupy kontrolnej otrzymywały sól fizjologiczną. OZT było wywołane dootrzewnowym podaniem ceruleiny. Następnie we wszystkich grupach przeprowadzono stosowne analizy 1) Pomiar trzustkowego przepływu krwi, 2) Analiza biochemiczna z próbek krwi pobranych z aorty brzusznej. Oznaczono: a) międzynarodowy współczynnik znormalizowany (INR), b) poziom D-Dimerów, c) poziom lipazy i amylazy trzustkowej, d) poziom interleukiny 1β, e) Pomiar masy trzustki i histologiczna ocena narządu: w tym: obrzęk trzustki, krwotok, naciek leukocytarny, martwica komórek groniastych, wakuolizacja komórek groniastych.

Materiał i metody

Badania zostały przeprowadzone zgodnie z protokołem zatwierdzonym przez I Lokalną Komisję Etyczną do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Krakowie Warto podkreślić, że badania zostały przeprowadzone na dużej liczbie szczurów płci męskiej rasy Wistar (n=64 *vide* eksperyment 1) oraz (n=184 *vide* eksperyment 2). W podrozdziale (grupy zwierząt) opisano warunki hodowli szczurów, grupy badawcze i kontrolną dla obu eksperymentów (1 i 2) W rozprawie doktorskiej przy opisie testu ELISA Rat IL-1β Platinum Elisa (Bender MedSystem GmbH, Vienna, Austria) dla obu eksperymentów.; Doktorantka powinna podać zakres zmienności błędu laboratoryjnego (*inter-assay*, *intra-assay* validation) wprost z ulotki producenta testu. W materiałach i metodach opisanych dla eksperymentu 1 (wpływ warfaryny na rozwój obrzękowego zapalenia trzustki); dosyć mylące dla czytelnika może być opis grup badawczych, który mógłby być nieco bardziej zmodyfikowany; w szczególności grupy 2-4 (szczury bez indukcji OZT leczone warfaryną (...) przed indukcją OZT (sumarycznie nieco mylące połączenie, które po dalszej lekturze rozprawy jest wyjaśnione i opisane przez Doktorantkę). Wynika oto z faktu, że Eksp. 1 dotyczył badania wpływu warfaryny przed wywołaniem OZT na rozwój tego zapalenia indukowanego później; 7 dni po pre-ekspozycji szczurów na warfarynę w różnych dawkach. Co warte podkreślenia, dawki warfaryny, Doktorantka określiła w odniesiu do dawek leku używanego u ludzi.

WYDZIAŁ LEKARSKI
UNIWERSYTET OPOLSKI

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

Wyniki i Dyskusja

W następnej części rozprawy doktorskiej autorka omawia wyniki swoich badań. Wyniki te są szczegółowo przedstawione na 8 rycinach i 1 tabeli (dla eksperymentu 1) oraz 8 rycinach i 2 tabelach (dla eksperymentu. 2). Co warto podkreślić ryciny są bardzo estetycznie przygotowane i czytelne dla odbiorcy. Jedyna moja drobna uwaga dotycząca opisu rycin i tabel aby zachować jeden język w tym przypadku język polski dla całego opisu osi wykresu przedstawianego na rycinie lub wierszy w tabeli. Z jednej strony oś x i y wykresu -są opisane w języku angielskim, podczas gdy opis pod ryciną jest w języku polskim. W tabeli 1- znajdziemy: grupę kontrolną (C) oraz WARFARIN 90 + Saline itd… idealnie by było gdyby jednak Doktorantka użyła wyłącznie języka polskiego. W rycinach i tabelach dla obu eksperymentów mamy wspomniane wyżej opisy dwujęzyczne.

Pierwszy eksperyment dotyczył wpływu podawania warfaryny przed wywołaniem ostrego obrzękowego zapalenia trzustki na rozwój tego zapalenia u szczurów. Na podstawie analizy parametrów funkcjonalnych, biochemicznych i histologicznych, Doktorantka udowodniła, że leczenie niskimi dawkami warfaryny może zapobiegać ostremu obrzękowemu zapaleniu trzustki. Wywołanie ostrego zapalenia trzustki podaniem ceruleiny prowadziło do spadku przepływu krwi w trzustce o około 48% *vs* grupa kontrolna. Podawanie warfaryny w dawce 90 µg/kg/dawkę lub 180 µg/kg/dawkę istotnie osłabiło redukcję trzustkowego przepływu krwi wywołanego ceruleiną. Podaż warfaryny prowadziła do istotnego wzrostu poziomu INR (względem kontroli), a wartości INR były porównywalne zarówno u zwierząt, u których wywołano OZT jak i tych bez indukcji zapalenia. Co więcej, indukcja ostrego zapalenia trzustki skutkowała 9-krotnym wzrostem stężenia D-dimerów w osoczu. Podawanie warfaryny przed indukcją OZT skutkowało częściowym obniżeniem stężenia D-dimerów. Ciekawe wydają się również zmiany w aktywności enzymów trzustkowych. W opisywanym doświadczeniu, osoczowa aktywność lipazy i amylazy po wywołaniu OZT były prawie 9-cio i 10-cio krotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Podaż warfaryny w dawce 90 lub 180 µg/kg/dawkę przez kolejnych 7 dni przed indukcją OZT częściowo, ale istotnie hamowała wzrost aktywności lipazy i amylazy wywołany indukcją zapalenia. Wydaje się to być jednocześnie skutkiem i mechanizmem ochronnego wpływu pochodnych kumaryny na trzustkę. Wysoka aktywność amylazy i lipazy charakteryzuje OZT. Doktorantka słusznie powiązała zależność między aktywnością enzymów

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

trawiennych w osoczu a ekspresją molekuł adhezyjnych w *endotelium* i leukocytach, co rzutuje obniżonym przepływem krwi przez trzustkę, obserwowanym przez Doktorantkę. Za niezwykle istotne, oceniając niniejszą rozprawę doktorską uważam, wskazanie na komplementarność uzyskanych wyników badań, które sumarycznie potwierdzają stawiane przez Doktoratkę hipotezy badawcze.

Uzyskane dane wskazują, ponadto, że obniżona aktywność enzymów trzustkowych we krwi występująca u zwierząt, które otrzymywały warfarynę prowadzi do zmniejszenia nasilenia uszkodzenia tkanek wynikającego z bezpośredniego działania enzymów trawiennych oraz zmniejszenia nacieku zapalnego co w połączeniu prowadzi do zahamowania rozwoju ostrego zapalenia trzustki (*vide* stężenie IL-1β) oraz dochodzi do zmniejszenia obrzęku trzustki u zwierząt leczonych warfaryną w niższych dawkach u zwierząt, u których wywołano OZT. U szczurów, prowokacja OZT prowadziła, także do wzrostu stężenia prozapalnej cytokiny: IL-1β w osoczu w porównaniu do grupy kontrolnej. W innych badaniach, Doktorantka słusznie cytuje, że stężenie Il-6 orz Il-1β, koreluje z ciężkością ostrego zapalenia trzustki a nadekspresja Il-1β u myszy prowadzi do przewlekłego zapalenia trzustki.

W mojej ocenie najistotniejsze było umiejętne połączenie przez Doktorantkę wyników badań immunologicznych, biochemicznych z wynikami badań funkcjonalnych (przepływ krwi, masa narządu) wraz z oceną histologiczną trzustki po zakończonej farmakoterapii w porównaniu z grupami kontrolnymi (badania komplementarne). W ocenie histologicznej, u szczurów leczonych warfaryną w dawkach 90 μg/kg/dawkę lub 180 μg/kg/dawkę przed wywołaniem OZT zmiany zapalne w wycinkach histologicznych były zdecydowanie mniej nasilone, nie obserwowano tego efektu przy warfarynie podawanej w najwyższej dawcę.

W dyskusji do wyników z eksperymentu 1 Doktorantka, słusznie wskazuje na powiązanie między zmianami w przepływie krwi, stężeniem IL-1β, INR, stężeniem D-Dimerów. Podawanie warfaryny przed wywołaniem zapalenia redukuje poziom czynników krzepnięcia i nasilenie aktywacji układu krzepnięcia w trakcie indukcji OZT. Skutkuje to zmniejszeniem tworzenia skrzepów, a tym samym poziomu produktów degradacji fibryny.

Wnioski z eksperymentu 1

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

Doktorantka wysuwa następujące wnioski z przebiegu eksperymentu 1. Warfaryna podawana w niskich dawkach prowadzi do zahamowania rozwoju zmian zapalnych w trzustce wywołanych ceruleiną i niosą ze sobą implikacje kliniczne. 2) Podaż warfaryny u pacjentów poddawanych procedurom obarczonych zwiększonym ryzykiem rozwoju ostrego zapalenia trzustki, jak np. cholangiopankreatografia, może zmniejszać ryzyko rozwoju OZT. 4) Aktywacja układu krzepnięcia odgrywa istotną rolę w rozwoju ostrego zapalenia trzustki, niezależnie od jego pierwotnej przyczyny a modyfikacja aktywności układu krzepnięcia w przebiegu OZT może odgrywać istotną rolę terapeutyczną w przebiegu tej choroby.

Eksperyment 2

Przedstawiony eksperyment 2 miał na celu zbadanie wpływu warfryny, na przebieg łagodnego, obrzękowego zapalenia trzustki wywołanego ceruleiną. Na podstawie oceny czynnościowej, histologicznej i laboratoryjnej Doktorantka wykazała zależność pomiędzy zapaleniem (*vide* obraz histologiczny, stężenie IL-1β) a krzepnięciem (*vide* INR) w ostrym zapaleniu trzustki, tak samo jak terapeutyczny wpływ warfaryny na trzustkę w przebiegu choroby. Ponad to po indukcji OZT, badanie morfologiczne wykazało obrzęk trzustki widoczny makroskopowo oraz mikroskopowo w ocenie histologicznej, tak samo jak obserwowana zwiększona masa analizowanego narządu. Indukcja OZT prowadziła także do powstania w trzustce nacieku zapalnego i wakuolizacji komórek groniastych. Jak słusznie zauważa Doktorantka, badania wykazały, że podanie warfaryny przyspiesza ustąpienie objawów uszkodzenia trzustki, oraz przyspiesza regenerację tego narządu. Najlepszy efekt terapeutyczny obserwowano przy podaży warfaryny w dawce 90 μg/kg/dawkę. Leczniczy efekt tej dawki warfaryny był widoczny szczególnie drugiego i trzeciego dnia po indukcji ostrego zapalenia trzustki, gdy uszkodzenie trzustki było największe (zredukowany obrzęk trzustki, naciek leukocytarny i wakuolizacji komórek trzustki) co dodatkowo korelowało ze spadkiem stężenia IL-1β w tych samych interwałach czasowych terapii. Poprzednie badania wykazały, że w przebiegu ostrego zapalenia trzustki, Il-1β, czynnik martwicy guza (TNF- α), oraz Il-6 początkowo są produkowane w trzustce na poziomie mRNA i białek, a następnie w innych narządach takich jak płuca, wątroba, śledziona. Ciężkość OZT dobrze koreluje ze stężeniem cytokin prozapalnych. W prezentowanym badaniu wykazano, że indukcja OZT poprzez podanie ceruleiny prowadzi do zwiększenia wartości INR a efekt ten był istotny pomiędzy zerowym a piątym dniem od podania ceruleiny. Efekt ten

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

łączył się ze wzrostem osoczowego stężenia D-dimerów. Wspólnie powyższe obserwacje wskazują, że rozwój OZT prowadzi do aktywacji krzepnięcia, tworzenia fibryny i wzrostu osoczowego stężenia D-dimerów będących produktem rozpadu fibryny.

Ciekawych obserwacji dokonała także Doktorantka badając aktywność enzymów trzustkowych we krwi w przebiegu OZT. Oba enzymy są składnikami soku trzustkowego, a osoczowa aktywność lipazy lub amylazy trzykrotnie przewyższający górną wartość normy jest jednym z kryteriów rozpoznania ostrego zapalenia trzustki. Pomiar aktywności enzymów trzustkowych może być przydatny do monitorowania ryzyka i przebiegu OZT u pacjentów z infekcją COVID-19, zwłaszcza w przypadku pacjentów z cukrzycą. W eksperymencie 2 bezpośrednio po ostatniej dawce ceruleiny osoczowa aktywność amylazy i lipazy wzrosła odpowiednio ponad siedemnasto- i szesnastokrotnie. Szczyt osoczowej aktywności amylazy był obserwowany bezpośrednio po ostatniej dawce ceruleiny, podczas gdy maksymalną aktywność lipazy stwierdzono dzień po indukcji OZT. Leczenie warfaryną przyspieszyło normalizację osoczowej aktywności obu enzymów w przebiegu OZT. Na tej podstawie Doktorantka wnioskuje, że warfaryna wykazuje efekt terapeutyczny w przebiegu indukowanego ceruleiną ostrego zapalenia trzustki. Obserwowany spadek aktywności trzustkowych enzymów trawiennych zdaje się być wynikiem poprawy stanu trzustki (*vide* poprawiający się przepływ krwi przez trzustkę, masa narządu); najlepszy efekt terapeutyczny wykazała także dawka [90 μg/kg/]. Doktorantka zaobserwowała, osłabienia terapeutycznego działania warfaryny w czasie, który zachodzi równocześnie z procesem gojenia narządu. Doktorantka słusznie wskazuje na wąskie okno terapeutyczne warfaryny, co potencjalnie zmniejsza potencjał kliniczny użycia tego leku. W warunkach klinicznych taka terapia mogłaby wiązać się ze zwiększonym ryzykiem krwawienia i wymagałoby intensywnego monitorowania INR oraz dostosowania dawki leku do bieżącego stanu klinicznego pacjenta. Dobrze, że Doktorantka wskazała, że poziom INR jest zależny od wielu czynników mi., diety, polimorfizm genów CYP2C9 oraz VKORC1 co może posłużyć zaprojektowaniu badania klinicznego z użyciem warfaryny w oparciu o analizę genotypu pacjentów (poprawa profilu bezpieczeństwa leku) i analizie ich jadłospisów z sondażu diagnostycznego celem doboru właściwej dawki leku dla konkretnego pacjenta (terapia personalizowana). Aktywność osoczowa enzymów trzustkowych w trakcie terapii warfaryną w niskiej dawce w powiązaniu z wynikami monitorowania przepływu krwi potwierdza proces normalizacji lub regeneracji narządu w czasie. Badanie kinetyki zmian w aktywności tych enzymów

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

w czasie od 0 do 10 dni po podaniu ceruleiny jest doskonałym przykładem świetnie zaprojektowanego badania, w którym obserwowane jest okno terapeutyczne testowanego leku w układzie powiązanych ze sobą zmiennych takich jak markery stresu oksydacyjnego, nadkrzepliwości, stanu zapalnego.

Doktorantka słusznie wnioskuje, że „warfaryna zastosowana w leczeniu ostrego zapalenia trzustki wykazuje efekt terapeutyczny, zmniejsza nasilenie zmian zapalnych w trzustce i poprawia regenerację narządu, choć lek charakteryzuje się wąskim oknem terapeutycznym". Finalnie na końcu rozprawy doktorskiej, Doktorantka umieściła ograniczenia badań wskazując na konieczność przeprowadzenia dalszych badań w tym klinicznych, wskazuje na wąskie okno terapeutyczne leku oraz na istotne ograniczenia w jego stosowaniu, nie zapominając o korzyściach przemawiających za warfaryną na niekorzyść acenokumarolu. Wprowadzenie tego rozdziału świadczy o dojrzałości Doktorantki, która jest świadoma wielu ograniczeń samego modelu badawczego, krytycznej analizie własnych wyników oraz wniosków końcowych wynikających z przebiegu całego eksperymentu nr 2, który bada kinetykę obserwowanych zmian w czasie (0-10 dni) po indukcji OZT, co zdecydowanie odróżnia je od badań prowadzonych w eksperymencie 1.

Podsumowanie

Podsumowując całość Rozprawy Doktorskiej **lek. Katarzyna Konarska-Bajda** z przyjemnością stwierdzam, że nie mam żadnych krytycznych uwag, które mogłyby się nasunąć podczas analizy przedstawionej rozprawy. Praca ta stanowi przykład doskonale zaprojektowanego i przeprowadzonego badania, które stanowi wzorowe rozwiązanie problemu naukowego. Drobne błędy literowe i gramatyczne, niemające nic wspólnego z wartością merytoryczną pracy, pozwalam sobie pominąć. Komplementarność i wszechstronność analiz (badania biochemiczne, immunologiczne., histologiczne, funkcjonalne) uwiarygadniają wnioski wysunięte z obserwacji dokonanych przez Doktorantkę.

Doktorantka potrafi krytycznie oceniać wyniki badań innych autorów, wskazując na pewne ograniczenia modelu badawczego lub niejednoznaczność otrzymanych rezultatów. Doktorantka zwraca uwagę na niejasności i odmienne często obserwacje dokonane przez innych autorów w zakresie analizowanego tematu.

WYDZIAŁ LEKARSKI
UNIWERSYTET OPOLSKI

Zakład Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
ul. Oleska 48, 45-052 Opole
tel. +48 77 452 74 44
www.lekarski.uni.opole.pl

Praca ta jest niezwykle interesująca i wartościowa, a wyniki przedstawione w niej posiadają potencjał istotnego znaczenia praktycznego w eksperymentalnych modelach leczenia ostrego zapalenia trzustki, tym bardziej, że brak jest wielu innych opublikowanych podobnych obserwacji w piśmiennictwie naukowym. Zasadność podjętego tematu badawczego jest tym większa, że wiele dostępnych leków z grupy antykoagulantów ma dosyć duże skutki uboczne przez co wymagają zwiększonej uwagi lekarzy podczas monitorowania bezpieczeństwa i skuteczności terapii (*vide* genotyp lub stosowana dieta).

Autorka dogłębnie zapoznała się z współczesnym piśmiennictwem dotyczącym tematu pracy i co więcej, wykazała się umiejętnością właściwego wykorzystywania go do założonych celów. Przedstawiona mi do recenzji rozprawa jest rezultatem bardzo solidnego, nowoczesnego warsztatu naukowego. Mam świadomość jak pracochłonne i wymagające są badania naukowe prowadzone z użyciem zwierząt doświadczalnych a także sam model indukowanego uszkodzenia tego narządu poprzez podanie ceruleiny. Pracę oceniam wysoce pozytywnie i uważam za odpowiadającą w pełni wymogom stawianym rozprawom doktorskim oraz warunkom określonym w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki".

Bardzo wysoka wartość merytoryczna uzyskanych wyników badań oraz wysoki możliwy potencjał aplikacyjny leku pozwalają mnie jako Recenzentowi **wnioskować do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych, Uniwersytetu Jagiellońskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. Katarzyny Konarska-Bajda.**

Biorąc powyższe pod uwagę z przyjemnością przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego wniosek o dopuszczenie **lek. Katarzynę Konarska-Bajda** do dalszych etapów postępowania doktorskiego na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Z poważaniem

Rafał Jakub Bułdak

dr hab. n. med. Rafał J. Bułdak, prof. UO
Rafał Bułdak
Kierownik Zakładu Biochemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
Instytut Nauk Medycznych