

Wzrost 17.08.18
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
WYDZIAŁ LEKARSKI
Katedra i Klinika

prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okolów

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu	
KATEDRA I KLINIKA WYDZIAŁU LEKARSKIEGO	
wpł. dnia	16-09-2018
L.dz. DL	
Katedra i Klinika	

Recenzja rozprawy doktorskiej lekarza Macieja Jakubowskiego

pt. **„Rola anhydryzy węglanowej II w patogenezie oporności płytek krwi na kwas acetylosalicylowy”**

powstałej

w Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych, Zawodowych, Nadciśnienia Tętniczego i Onkologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Choroby układu sercowo-naczyniowego stanowią wiodący problem zdrowotny w populacji światowej i pozostają główną przyczyną chorobowości i śmiertelności zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się. Istotnym problemem są powikłania zakrzepowo-zatorowe, których jedną z przyczyn jest wzmożona aktywacja płytek krwi. Dlatego też należy dołożyć wszelkich starań, by minimalizować ich występowanie.

Kwas acetylosalicylowy (ASA) odgrywa kluczową rolę w zapobieganiu występowania nowych zdarzeń sercowo-naczyniowych w grupie chorych wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego. Natomiast u pacjentów z rozpoznaną już chorobą niedokrwinną serca, udarem mózgu czy chorobą tętnic obwodowych jego stosowanie znacząco zmniejsza częstość występowania kolejnych epizodów zakrzepowo-zatorowych. Jednakże nie u każdego pacjenta ASA prawidłowo blokuje płytki krwi. Przyczyną tego jest zjawisko aspirynooporności. Z klinicznego punktu widzenia jest ona definiowana jako występowanie powikłań zakrzepowo-zatorowych, pomimo regularnego przyjmowania ASA. Aspirynooporność stanowi istotny problem w praktyce klinicznej i obejmuje, wg różnych szacunków, 5-25% populacji leczonej kwasem acetylosalicylowym. Liczne badania przeprowadzone w tym zakresie nie umożliwiły dokładnego poznania patomechanizmu tego zjawiska. Konieczne jest zatem definiowanie nowych strategii terapii w oparciu o zebrane dane z badań przeprowadzonych na poziomie molekularnym z wykorzystaniem między innymi technik molekularnych wykorzystywanych przez proteomikę.

Tego rodzaju badanie powstało w renomowanym ośrodku zajmującym się proteomiką. Lekarz Maciej Jakubowski pod kierownictwem Pana dr hab. n. med. Adriana Doroszko podjęli próbę wyjaśnienia patomechanizmu aspirynooporności w

oparciu o analizę różnicową proteomu i peptydomu płytek krwi w zależności od ich reaktywności na kwas acetylosalicylowy.

Tematyka badań prowadzonych przez lekarza Macieja Jakubowskiego jest istotna z naukowego punktu widzenia, ale również - co według recenzenta ma większe znaczenie, może przyczynić się do bardziej właściwego postępowania klinicznego w tej grupie chorych. Poprzez zmniejszenie lub nawet całkowite wyeliminowanie zjawiska aspirynooporności, może bowiem poprawić rokowanie dla wyjściowo obciążonej grupy pacjentów.

Rozprawa doktorska lekarza Macieja Jakubowskiego ma formę spójnego tematycznie cyklu dwóch publikacji ogłoszonych w międzynarodowych, renomowanych czasopismach naukowych. W obydwu artykułach doktorant jest pierwszym autorem. Należy podkreślić wysoką łączną punktację publikacji włączonych do rozprawy doktorskiej (współczynnik oddziaływania Impact Factor 7,069 oraz 75 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego). Ponadto należy odnotować, że lekarz Maciej Jakubowski jest także autorem kilku publikacji, które nie zostały włączone do rozprawy doktorskiej (łączna punktacja - współczynnik oddziaływania Impact Factor 10,709 oraz 100 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego). Lekarz Maciej Jakubowski był uczestnikiem czterech grantów naukowych, a na podstawie wyników jednego z nich (MNiSW- Iuventus Plus- IP2011 010471) powstała oceniana dysertacja. Podsumowując dotychczasowy dorobek naukowy lekarza Macieja Jakubowskiego należy uznać go za wyróżniającego się i dającego nadzieję na dalszy rozwój naukowy, który będzie owocować kolejnymi publikacjami w recenzowanych pismach.

Rozprawa doktorska lekarza Macieja Jakubowskiego liczy 48 stron i ma układ klasyczny dla prac doktorskich w formie cyklu publikacji. Składa się ze: spisu treści, listy publikacji stanowiących rozprawę doktorską, omówienia publikacji wchodzących w skład rozprawy wraz z kopiami publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, streszczeń w języku polskim i angielskim, oraz oświadczeń współautorów dotyczących charakteru ich udziału w przygotowaniu publikacji stanowiących rozprawę doktorską. Uważam, że brakującą częścią dysertacji jest wyodrębnienie dwóch dodatkowych punktów: jasno sformułowanego celu oraz wniosków pracy. Ułatwiłoby to czytającemu sprawne zapoznanie się poruszaną tematyką.

W części „Omówienie Publikacji Wchodzących w Skład Rozprawy” Doktorant w stosunkowo krótki, ale wyczerpujący sposób przedstawia aktualny stan wiedzy

dotyczący zjawiska aspirynooporności. W tej części również klarownie omawia artykuły wchodzące w skład cyklu rozprawy.

Pierwszą z prac „Platelet Carbonic Anhydrase II, a Forgotten Enzyme, May Be Responsible for Aspirin Resistance” opublikowano w *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Jej głównym celem była ocena molekularnego podłoża zmniejszonej odpowiedzi płytek na kwas acetylosalicylowy w zakresie proteomu płytek krwi u osób z zachowaną oraz ze zmniejszoną ich wrażliwością na ASA. Do badania włączono 61 zdrowych ochotników w wieku od 18 do 60 lat. W tym miejscu należy podkreślić bardzo starannie przemyślane kryteria wyłączenia, które pozwoliły na wyeliminowanie wielu czynników mogących mieć wpływ na uzyskane wyniki, a co za tym idzie utrudnić ich interpretację. Godny podkreślenia jest też wybór metody badawczej- chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS, ang. liquid chromatography-mass spectrometry) – MALDI TOF-TOF (ang. matrix-assisted laser desorption/ionization tandem time-of-flight) zapewniającej obiektywność i wysoką powtarzalność w ocenie proteomu. Przechodząc do wyników, Autorzy, w tym Doktorant nie wykazali istotnych statystycznie różnic w ogólnej charakterystyce demograficznej i biochemicznej w badanych grupach, poza stężeniem kreatyniny, glukozy oraz parametrów czerwonych krwinek. Najistotniejszym wynikiem opisywanej pracy jest stwierdzenie że spośród wszystkich zidentyfikowanych białek tworzących proteom płytek krwi jedynym różnicującym obie grupy oraz potencjalnie wpływającym na odpowiedź na kwas acetylosalicylowy jest anhidraza węglanowa II (CA II) i występuje ona w znamienne większym stężeniu w grupie osób aspirynoopornych. Dodatkowo zaobserwowano, że grupa osób aspirynoopornych charakteryzowała się także silniejszą wyjściową agregacją płytek krwi zależną od kwasu arachidonowego, tj. różnica występowała także bez dodatku kwasu acetylosalicylowego. Podsumowaniem pracy jest stwierdzenie, że anhidraza węglanowa jest modulatorem czynności płytek krwi. Wzrost jej aktywności i/lub stężenia w płytce krwi może być nowym niezależnym predyktorem ich aspirynooporności w konsekwencji powikłań zakrzepowych.

Wartym podkreślenia jest fakt, że ponad 59% badanych miało wyjściowo zmniejszoną wrażliwość płytek krwi na ASA - wynik ten podkreśla słuszność obranego celu powyższej pracy. Doktorant podkreślając nowatorskość swoich wyników, postanowił podsumować stan dotychczasowej wiedzy na temat aspirynooporności. Dlatego też, drugą pracą cyklu jest praca poglądowa „The human carbonic anhydrase II

in platelets - an underestimated field of its activity" opublikowano w BioMed Research International. Jest to artykuł podsumowujący w sposób klarowny i wyczerpujący aktualną wiedzę dotyczącą roli anhidrazy węglanowej II w regulacji funkcji płytek krwi u ludzi oraz możliwego oddziaływania farmakologicznego na jej aktywność w płytkach krwi.

Doktorant przedstawił w oryginalnej publikacji uzyskane wyniki w sposób przejrzysty. Artykuł zawiera tabele i ryciny ułatwiające czytelnikowi zrozumienie omawianych zagadnień i uzyskanych wyników. Analiza statystyczna w pracy oryginalnej została wykonana poprawnie, co świadczy o dobrym przygotowaniu Doktoranta do dalszej pracy naukowej. Dyskusja w artykule oryginalnym jest napisana w sposób logiczny i merytorycznie poprawny, a zawarte piśmiennictwo liczące 33 pozycje prawidłowo dobrane. W artykule pogładowym Doktorant wykonał bardzo dużo pracy analizując 123 aktualne pozycje piśmiennictwa dotyczące roli anhidrazy węglanowej II w regulacji funkcji płytek krwi. W tym artykule Doktorant zaproponował przedstawienie wielu procesów w postaci rycin, które pomocne są w prawidłowym zrozumieniu tak trudnego zagadnienia.

Z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć o nielicznych uchybieniach literowych, składniowych oraz redakcyjnych w tej części tekstu. Powyższe uwagi nie umniejszają mojej wysokiej oceny tej części, stanowiącej poprawną naukową podstawę dysertacji.

Uważam, że jednym z najważniejszych dokonań jest wykazanie po raz pierwszy, że spośród wszystkich zidentyfikowanych białek tworzących proteom płytek krwi jedynym różnicującym obie grupy oraz potencjalnie wpływającym na odpowiedź na kwas acetylosalicylowy jest anhidraza węglanowa II (CA II) i występuje ona w znamienne większym stężeniu w grupie pacjentów aspirynoopornych.

Ostatnio na łamach czasopisma The Lancet opublikowano pracę (Lancet. 2018 Jul 12. pii: S0140-6736(18)31133-4) w której stwierdzono, że małe dawki kwasu acetylosalicylowego (75-100mg/dobę) są skuteczne w zapobieganiu zdarzeń sercowo-naczyniowych jedynie u pacjentów z masą ciała poniżej 70kg. Jest to bardzo interesujące odkrycie, które może przyczynić się do zmian dawkowania ASA w praktyce klinicznej. Czy Doktorant widzi tu zastosowanie proteomiki do pogłębienia tego tematu? Proszę o przedyskutowanie powyższej kwestii w czasie publicznej obrony. Ponadto wiadomo, że w dotychczasowych wytycznych ocena aspirynooporność nie jest zalecana u wszystkich chorych. Czy zatem wyniki otrzymane przez Doktoranta mogą wpłynąć na zmianę

postępowania? Ponadto analiza wyników zaprezentowanej pracy oryginalnej rodzi kilka dodatkowych pytań: 1. Czy znane są Doktorantowi jakiegokolwiek modyfikacje ww. enzymu zmniejszające jego strukturę trzeciorzędową i dostęp do centrum aktywnego lub zwiększające podatność na degradację przez inne proteazy? 2. Czy enzym ten może też podlegać acetylacji i jego aktywność być modyfikowana przez ASA? 3. W jaki sposób Doktorant zaprojektowałby w oparciu o techniki proteomiki eksperymenty mające na celu weryfikację ww. zagadnień?

Podsumowując, wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lekarza Macieja Jakubowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 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.).

13.08.2018

Piotr Dobrowolski

dr hab. n. med. Piotr Dobrowolski
specjalista kardiolog
PWZ 2312184