

Prof. dr hab. n. med. Agata Stanek

Bytom, 16.08.2018

Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych,

Angiologii i Medycyny Fizykalnej

Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze

ul. Batorego 15

41-902 Bytom

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Macieja Jakubowskiego
pt. "Rola anhydryzy węglanowej II w patogenezie oporności płytek krwi na kwas
acetylosalicylowy"**

Podstawę opracowania recenzji przez mnie stanowi otrzymane pismo Dziekana Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu DL/N/2138/18 i przekazana rozprawa doktorska.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska była finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach Programu *Iuventus Plus* (grant nr IP 2011 010471), którego Doktorant był wykonawcą, pod kierunkiem promotora dysertacji dr hab. n. med. Adriana Doroszko.

1. Ocena merytoryczna

Na podstawie art.13 ust.2 i 6 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003r., nr 65, poz. 595z póź. zm) rozprawa doktorska lek. Macieja Jakubowskiego pt. „Rola anhydryzy węglanowej II w patogenezie oporności płytek krwi na kwas acetylosalicylowy” ma formę spójnego tematycznie zbioru artykułów (jednego oryginalnego oraz pracy pogładowej, które zostały opublikowane w latach 2017-2018 o łącznym współczynniku oddziaływania IF=7,069 w momencie składania dysertacji (według Thompson Reuters za 2017 IF=7,519) MNiSW=55.

W pracach tych lek. Maciej Jakubowski jest pierwszym autorem. Potwierdza to znaczącą rolę Autora w realizacji projektu.

Są to publikacje:

1. **Jakubowski M**, Dębski J, Szahidewicz-Krupska E, Turek-Jakubowska A, Gawryś J, Gawryś K, Skomro R, Derkacz A, Doroszko A. *Platelet Carbonic Anhydrase II, a Forgotten Enzyme, May Be Responsible for Aspirin Resistance.*

Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:3132063. doi: 10.1155/2017/3132063. Epub 2017 Sep 27.

IF₂₀₁₆ =4.593 (IF₂₀₁₇= 4.936) pkt. MNiSW/KBN: 30.000

2. **Jakubowski M**, Szahidewicz-Krupska E, Doroszko A. *The human carbonic anhydrase II in platelets - an underestimated field of its activity*

Biomed Res Int. 2018;2018:4548353 (Review Article), ahead of print, praca przyjęta do druku 24.05.2018

IF₂₀₁₆= 2.476 (IF₂₀₁₇= 2,583) pkt. MNiSW/KBN: 25.000

Rozprawa doktorska lek. Macieja Jakubowskiego składa się z listy prac wchodzących w skład zbioru, ich omówienia, załączonych publikacji, oświadczeń współautorów, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz zgody komisji bioetycznej. Całość rozprawy napisana jest w przejrzysty i zrozumiały sposób, a jednocześnie poruszający niezbędne zagadnienia związane z tematem pracy.

a) Trafność podjętej problematyki i jej oryginalność

Aspirynooporność stanowi istotny problem w praktyce klinicznej i występuje, wg różnych szacunków nawet u 25% populacji leczonej kwasem acetylosalicylowym. Dotychczasowe liczne przeprowadzone badania w tym zakresie nie przedstawiły dokładnego patomechanizmu tego zjawiska. Pomimo stale postępującej aktualizacji standardów leczenia przeciwzakrzepowego i przeciwplateletowego, wyniki terapii często są niezadowolające. Dlatego, w świetle powyższego, wybór tematu pracy uważam za aktualny i uzasadniony.

W pierwszej pracy pt. *“Platelet Carbonic Anhydrase II, a Forgotten Enzyme, May Be Responsible for Aspirin Resistance”* Doktorant podjął się próby zbadania różnic w zakresie proteomu płytek krwi u osób z zachowaną oraz ze zmniejszoną ich wrażliwością na ASA za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS). Do badania zakwalifikowano 61 ochotników. Po pobraniu krwi i przeprowadzeniu badania fizykalnego wykonano agregację płytek krwi w osoczu bogatopłytkowym oraz ich izolację do analiz proteomicznych. Następnie, po uzyskaniu wyników agregacji płytek krwi indukowanej kwasem arachidonowym, uczestników badania podzielono na aspirynowrażliwych i aspirynoopornych.

W kolejnym etapie porównano proteom płytek krwi obu grup przy użyciu LC-MS. Spośród uczestników badania 25 osób prezentowało pełną wrażliwość na kwas acetylosalicylowy, a 36 wykazało aspirynooporność. Analiza LC-MS wykazała, że spośród wszystkich zidentyfikowanych białek tworzących proteom płytek jedynym różnicującym obie grupy oraz potencjalnie wpływającym na odpowiedź na kwas acetylosalicylowy jest anhidraza węglanowa II (CA II) i występuje ona w znacznie większym stężeniu w grupie 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. W pracy wykazano, że anhidraza węglanowa II nie tylko ogranicza działanie kwasu acetylosalicylowego, ale także może być modulatorem funkcji płytek krwi, a jej wysoka aktywność w trombocytach stanowić czynnik ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych.

W drugiej pracy pt. *“The human carbonic anhydrase II in platelets - an underestimated field of its activity”* Doktorant podsumowuje aktualną wiedzę dotyczącą roli anhidrazy węglanowej II w regulacji funkcji płytek krwi u ludzi oraz możliwego oddziaływania farmakologicznego na jej aktywność w płytkach. Ponadto przedstawiono wpływ leków regulujących aktywność CA II na funkcję płytek krwi, a następnie omówiono potencjalny wpływ CA II na te interakcje lek – płytka.

Pomimo, że anhidraza węglanowa II w płytkach krwi została po raz pierwszy opisana w latach 80. ubiegłego wieku, jej dokładna rola w fizjologii i patologii płytek krwi nadal pozostaje słabo wyjaśniona. Stąd niezwykle ważne są publikacje Doktoranta na ten temat.

b) Ocena uzyskanych rezultatów i ich znaczenie dla nauki i praktyki

Rozprawa doktorska posiada nowatorski i praktyczny charakter, wnosząc nowe informacje na temat roli anhidrazy węglanowej II w regulacji płytek krwi. Należy podkreślić, że obie prace z cyklu wskazują po raz pierwszy na ważną rolę anhidrazy węglanowej w ograniczaniu skuteczności leczenia przeciwplateletowego. Rozprawa doktorska pozwoliła zatem na sprecyzowanie na poziomie molekularnym nowego celu terapeutycznego w leczeniu przeciwapagregacyjnym, co w przyszłości może mieć istotne implikacje w codziennej praktyce lekarskiej i zwiększyć skuteczność leczenia przeciwplateletowego.

Ponieważ wyniki pracy mogą mieć szerokie implikacje w praktyce klinicznej, proszę Doktoranta o przedyskutowanie dalszych kroków dotyczących weryfikacji i walidacji uzyskanych wyników podczas publicznej obrony. Czy doktorant dostrzega jakieś ograniczenia uzyskanych wyników? Czy uzyskane rezultaty, w opinii Doktoranta, stanowią krok w kierunku personalizacji terapii?

Zakładając, że wyniki pracy są przykładem dynamicznie rozwijającej się medycyny translacyjnej, jak Doktorant wytłumaczyłby klinicyście ich praktyczne znaczenie i kto potencjalnie mógłby odnieść z nich największe korzyści w świetle aktualnej wiedzy?

c) Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Doktorant posługuje się poprawnym słownictwem charakterystycznym dla prac naukowych, medyczny język angielski i polski jest prawidłowy. Praca doktorska napisana jest poprawnie pod względem formalno - językowym, stylistycznym i interpunkcyjnym.

3. Ocena metodologiczna

a) dobór literatury, umiejętności, wykorzystanie źródeł

Piśmiennictwo jest aktualne, ściśle związane z tematem pracy doktorskiej i umiejętnie zacytowane. Autor posiada dużą znajomość literatury przedmiotu.

b) poprawność formułowania problemów i hipotez (założenia badawcze)

Cele i hipotezy badawcze zostały sformułowane prawidłowo, a wnioski każdej z prac odpowiadają ściśle postawionym celom pracy i znajdują podparcie w przedstawionych wynikach.

c) trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zastosowania

Opis metodyki prac zawiera wszelkie konieczne informacje niezbędne dla zorientowania się w sposobie przeprowadzania badania. Doktorant zastosował odpowiednie i nowoczesne metody diagnostyczne gwarantujące rzetelność i powtarzalność uzyskanych wyników oraz wykorzystał odpowiednie metody statystyczne.

d) poprawność układu pracy i struktury podziału treści

Układ pracy i struktura podziału treści pracy odpowiada standardom prac doktorskich. Rozprawa doktorska może mieć formę spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych, z ich opisem w języku polskim i angielskim (art. 13, ust. 2 i 6), i taką formę dysertacji wybrał Doktorant.

4. Wniosek końcowy

Przystępując do oceny całości stwierdzam, praca doktorska lek. Macieja Jakubowskiego stanowi bardzo wartościowy i nowatorski dorobek naukowy. Autor wykazał się znajomością piśmiennictwa z zakresu pracy, w sposób umiejętny przeprowadził eksperyment, którego

wyniki starannie udokumentował, a w ich omówienie i dyskusję wniósł oryginalne elementy. Rozprawa posiada nowatorski i praktyczny charakter, wnosząc nowe informacje na temat roli anhidrazy II w aspirynooporności. Należy podkreślić, że obie prace z cyklu wskazują po raz pierwszy w świecie na ważną rolę anhidrazy węglanowej w ograniczaniu skuteczności leczenia przeciwplatekowego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Macieja Jakubowskiego spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.), w związku z czym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o przyjęcie pracy pt. „Rola anhidrazy węglanowej II w patogenezie oporności płytek krwi na kwas acetylosalicylowy” jako rozprawy doktorskiej, dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych oraz wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jakubowski', is centered on the page.