



Warszawa, 29.02.2024

Ocena rozprawy doktorskiej

lek. Karoliny Gumiężnej

pt.

**Fracja niedojrzałych płytek krwi oraz płytkowe mikroRNA
w ocenie rokowania oraz odpowiedzi na leczenie przeciwplatekcyjne
w ostrych zespołach wieńcowych:
prospektywne badanie kohortowe**

Promotor: dr hab. n. med. i n. o zdr. Mariusz Tomaniak

I Katedra i Klinika Kardiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Proces aktywacji i agregacji płytek krwi odgrywa istotną rolę w patofizjologii ostrych zespołów wieńcowych. Podstawowym celem farmakoterapii staje się więc zahamowanie ich aktywności poprzez wpływ na uczestniczący w tym procesie receptor płytkowy P2Y₁₂. Dołączenie inhibitorów tego receptora płytkowego do aspiryny, wpłynęło istotnie na redukcję poważnych zdarzeń sercowo-naczyniowych w znacznej grupie pacjentów, ale jednocześnie stwierdzono wyraźnie zróżnicowaną osobniczo odpowiedź na stosowane leczenie. Dlatego obecnie dużą wagę przykładają się do potrzeby indywidualizacji sposobu i czasu terapii przeciwplatekcyjnej. Pomocne w tym względzie wydają się być parametry oceniające aktywność i cechy płytek krwi. Można powiedzieć, że znalezienie optymalnego czasu zahamowania płytek i personalizacja leczenia przeciwplatekcyjnego to wyzwanie najbliższych lat w farmakoterapii ostrych zespołów wieńcowych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Karoliny Gumiężnej pt. „Fracja niedojrzałych płytek krwi oraz płytkowe mikroRNA w ocenie rokowania oraz odpowiedzi na leczenie przeciwplatekcyjne w ostrych zespołach wieńcowych: prospektywne badanie kohortowe” **dotyczy więc tematu jak najbardziej aktualnego i ważnego klinicznie.**

Omówienie rozprawy

Opis ogólny

Rozprawa doktorska opiera się na omówieniu czterech ściśle powiązanych ze sobą prac, opublikowanych w renomowanych czasopismach:

1. **Gumiężna Karolina, Bednarek Adrian, Sygitowicz Grażyna, Baruś Piotr, Wiśniewska Agnieszka, Klimczak-Tomaniak Dominika, Kochman Janusz, Opolski Grzegorz, Grabowski Marcin, Tomaniak Mariusz, "Immature platelet fraction and immature platelet count as novel biomarkers of elevated platelet reactivity in NSTEMI-ACS patients receiving dual antiplatelet therapy", *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2023;32(12):1465-1470; doi:10.17219/acem/177406; IF = 2.1, punkty MEiN: 140**
2. **Gumiężna Karolina, Bednarek Adrian, Sygitowicz Grażyna, Maciejak-Jastrzębska Agata, Baruś Piotr, Hunia Jaromir, Klimczak-Tomaniak Dominika, Kochman Janusz, Grabowski Marcin, Tomaniak Mariusz, "Platelet microRNAs as potential novel biomarkers for antiplatelet therapy with P2Y12 inhibitors and their association with platelet function.", *Journal of Clinical Medicine*, 2023;13(1):63; doi:10.3390/jcm13010063; IF = 3.9, punkty MEiN: 140**
3. **Gumiężna Karolina, Baruś Piotr, Sygitowicz Grażyna, Wiśniewska Agnieszka, Bednarek Adrian, Zabłocki Jakub, Piasecki Adam, Klimczak-Tomaniak Dominika, Kochman Janusz, Grabowski Marcin, Tomaniak Mariusz, "Prognostic implications of immature platelet fraction at 5-year follow-up among ACS patients treated with dual antiplatelet therapy.", *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 2024;29: 10742484231202864; doi:10.1177/10742484231202864; IF = 2.6, punkty MEiN: 100**
4. **Gumiężna, Karolina, Baruś Piotr, Sygitowicz Grażyna, Wiśniewska Agnieszka, Ochijewicz Dorota, Pasierb Karolina, Klimczak-Tomaniak Dominika, Kuca-Warnawin Ewa, Kochman Janusz, Grabowski Marcin, Opolski Grzegorz, Tomaniak Mariusz, Filipiak Krzysztof, "Immature platelet fraction in cardiovascular diagnostics and antiplatelet therapy monitoring." *Cardiology Journal*, 2023;30(5):817-824; doi:10.5603/CJ.a2023.0019; IF = 3.0, punkty MEiN: 100**

We wszystkich przedstawionych do cyklu pracach lek. Karolina Gumiężna jest pierwszym autorem, a jej wkład w powstanie prac zgodnie z deklaracjami współautorów wynosi 40-60-60-65%. Trzy prace oryginalne podsumowują analizy wykonane w ramach prospektywnego badania „Multimarker Evaluation of Platelet Activity and Aggregation in Patients Presenting with Acute Coronary Syndrome: Prospective Observational Study” (MULTIMARKER-ACS). Czwarta praca stanowi część poglądową rozprawy doktorskiej i w sposób syntetyczny przedstawia przegląd istniejącego piśmiennictwa w temacie rozprawy.

Łączna punktacja cyklu to IF 11,6 pkt; MNiSW: 480 pkt.

Zasadniczą część rozprawy doktorskiej liczy 72 strony. W załączeniu znajdują się pisemne oświadczenia współautorów prac zawierające ich zgody na wykorzystanie prac jako podstawy do ubiegania się o stopień doktora, oraz uchwała komisji bioetycznej.

Zasadniczą rozprawę rozpoczyna wykaz prac wchodzących w skład cyklu. Następnie doktorantka przedstawiła **Streszczenie** pracy (w języku polskim i angielskim) i na kolejnych stronach **Wprowadzenie** do tematu rozprawy, gdzie w sposób jasny przedstawia uzasadnienie i naukowe podstawy wyboru poszczególnych ocenianych w pracy paramentów. W tej części doktorantka również uzasadnia wybór tematu pracy oraz podstawy połączenia przedstawionych publikacji w cykl. Wykorzystane tutaj pozycje piśmiennictwa, podobnie jak w pracach oryginalnych stanowiących składowe cyklu są trafnie dobrane i aktualne. W kolejnej części zaprezentowano **Założenia i cel pracy**, a następnie **Kopie opublikowanych prac**. W kolejnym rozdziale **Podsumowanie i wnioski** w sposób przejrzysty i zwięzły przedstawione są wyniki opublikowanych prac, wnioski z nich wypływające oraz, co również niezwykle cenne, doktorantka zwraca uwagę na ograniczenia wnioskowania.

Rozprawa przygotowana jest przejrzysto, napisana poprawnym i komunikatywnym językiem. Również załączone publikacje są pod tym względem dobrze przygotowane. Znalazłam jedynie kilka błędów edytorskich (*jak chociażby Pierwsza z cyklu praca – str 1467 – „ a higher prevalence of hypertension in STE-ACS” nie STE-ACS ale NSTEMI-ACS*), bez znaczenia dla oceny pracy.

Założenia rozprawy

Założenia prac badawczych, których efektem jest rozprawa doktorska, zostały trafnie sformułowane. Dobrze zdefiniowano hipotezy badawcze i prawidłowo dobrano metodykę. Założenia badawcze rozprawy świadczą o jej oryginalności.

Ocena merytoryczna cyklu prac

Publikacja 1. przedstawia wartość diagnostyczną oceny frakcji oraz liczby niedojrzałych płytek krwi u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym. Do badania włączono 108 pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym (62 osoby ze STE-ACS i 46 z NSTEMI-ACS) poddawanych leczeniu interwencyjnemu z następczym podwójnym leczeniem przeciwplatekowym z użyciem kłopidogrelu lub tikagrelolu, przy czym grupa leczona kłopidogrelem była istotnie większa. Dokładnie zdefiniowane zostały kryteria włączenia oraz wyłączenia z badania. Przeprowadzona analiza korelacji wykazała, że zarówno frakcja jak i liczba niedojrzałych płytek krwi koreluje z reaktywnością płytek krwi indukowaną ADP u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia odcinka ST, niezależnie od otrzymywanego antagonisty receptora P2Y₁₂, natomiast nie obserwowano tej zależności w grupie osób z ostrym zespołem wieńcowym z uniesieniem odcinka ST. W przedstawionej pracy, doktorantka analizowała oddzielnie grupy z różną prezentacją ostrych zespołów wieńcowych, ponieważ jak sama zauważa, fenotyp płytek krwi oraz średnia objętość płytki mogą być zasadniczo różne u pacjentów z zawałem serca bez uniesienia odcinka ST w porównaniu do osób z zawałem serca z uniesieniem odcinka ST. We wnioskach stwierdzono, że oba badane parametry płytkowe mogą być obiecujące jako potencjalne markery reaktywności płytek krwi u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia odcinka ST poddawanych leczeniu inwazyjnemu i otrzymujących podwójne leczenie przeciwplatekowe. Autorka zwraca uwagę, że biorąc pod uwagę ich dostępność, markery te mogą okazać się cenne dla oceny indywidualnej odpowiedzi na leczenie przeciwplatekowe lub pomóc w identyfikacji osób, które są bardziej narażone na zdarzenia zakrzepowe, co byłoby niezwykle istotne w kontekście klinicznym. Wyniki są bardzo ciekawe i obiecujące. Na pewno cenne byłoby uzupełnienie wykonanych badań o większą reprezentację pacjentów leczonych podwójną terapią z użyciem tikagrelolu, co z uwagi na czas prowadzonych badań, było z oczywistych względów ograniczone w prezentowanej pracy doktorantki.

W Publikacji 3. przedstawiono z kolei bardzo cenną wartość prognostyczną obu badanych w pracy 1. parametrów płytkowych. Do badania spośród 140 pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym poddawanych podwójnej terapii przeciwplatekowej z wykorzystaniem tikagreloru lub kłopidogrelu, pełną ocenę klinicznych punktów końcowych przeprowadzono u 130 pacjentów po blisko 5-letnim okresie obserwacji. Pierwszorzędowy złożony punkt końcowy był zdefiniowany jako poważne niekorzystne zdarzenia sercowo-naczyniowe na które składały się: zgon z jakiegokolwiek przyczyny, zawał mięśnia sercowego, udar niedokrwienno mózgu lub nieplanowana rewaskularyzacja. Wystąpił on u 27 pacjentów (co stanowiło 20,8% całej badanej grupy) w okresie obserwacji o medianie wynoszącej 57 miesięcy. Po podzieleniu wszystkich włączonych pacjentów na tercyle w oparciu o wartość frakcji niedojrzałych płytek krwi, wykazano istotną różnicę w występowaniu złożonego punktu końcowego w najwyższym tercylu, w porównaniu z tercylem najniższym, a wyjściowy poziom frakcji niedojrzałych płytek krwi był niezależnie związany z przyszłym wystąpieniem złożonego punktu końcowego. Wyniki przeprowadzonych prac wskazały więc na niezwykle istotną wartość prognostyczną badanych przez doktorantkę parametrów płytkowych, chociaż jak słusznie zauważyła sama doktorantka uzyskane wyniki jak i dokładność ich pomiaru powinna zostać potwierdzona na większej populacji pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym. Wyniki prac prowadzonych przez doktorantkę inspirują więc do dalszych badań.

W Publikacji 2. Doktorantka zbadała poziomy ekspresji wybranych cząstek mikroRNA pochodzących z płytek krwi, które mogą regulować procesy ich aktywacji i tym samym wpływać na odpowiedź na leczenie przeciwplatekowe. Badanie przeprowadzono u 97 pacjentów, w tym 18 leczonych prasugrelem i 18 zdrowych ochotników. We wprowadzeniu do rozprawy doktorantka przedstawiła słuszne naukowe uzasadnienie wyboru do badania konkretnych cząsteczek mikroRNA. W przeprowadzonym badaniu wykazano, w jaki sposób zastosowanie podwójnej terapii przeciwplatekowej i wybór inhibitora P2Y₁₂ wpływa na ekspresję mikroRNA płytek krwi. Ponadto, ekspresja kilku cząsteczek mikroRNA wykazała związek z funkcją płytek krwi. We wnioskach autorzy zwracają uwagę, że jeśli wyniki zostaną potwierdzone na większej kohorcie, mogą przyczynić się do znalezienia sposobu wykorzystania mikroRNA płytek krwi jako biomarkerów do indywidualizowania terapii przeciwplatekowej.

Publikacja 4. stanowi z kolei cenny przegląd piśmiennictwa w prezentowanym temacie i stanowi część poglądową przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej.

Omawiane prace stanowią spójny cykl i źródło cennych, unikalnych informacji o badanych parametrach płytkowych, czego najlepszym dowodem jest ich opublikowanie w renomowanych czasopismach naukowych. Należy podkreślić, że ten fakt, sam w sobie, czyni ocenę rozprawy przez recenzenta łatwiejszą. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki zostały poddane dyskusji w ważnym kontekście klinicznym, ze świadomością - co ważne ich ograniczeń i wskazaniem konieczności przeprowadzenia badań nad wykorzystaniem badanych parametrów płytkowych oraz wybranych płytkowych mikroRNA w ocenie rokowania oraz odpowiedzi na leczenie przeciwplatekowe w ostrych zespołach wieńcowych na większej populacji pacjentów.

Pytania i uwagi

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską lek. Karoliny Gumiężnej nasuwają mi się następujące pytania, które wynikają głównie z zainteresowania podjętym tematem:

1. *Czy planuje Pani kontynuację badania w innych grupach, np. pacjentów leczonych aktualnie z większym użyciem nowych inhibitorów receptora płytkowego P2Y₁₂?*
2. *W pracy jest informacja, że „Próbki krwi z żyły obwodowej pobierano w ciągu pierwszych 24 godzin po zabiegu”. Czy jest to jednoznaczne z czasem pomiędzy podaniem dawki leku przeciwplatekowego a pobraniem krwi do badania parametrów płytkowych? Czy ten czas był porównywalny u wszystkich pacjentów?*
3. *W badaniach dotyczących oceny funkcji płytek krwi w trakcie terapii przeciwplatekowej można spotkać różne dane dotyczące optymalnego punktu czasowego wykonania badań. Co Pani sądzi na ten temat? Czy wybrany przez Panią w prezentowanej pracy czas dokonywania badań jest optymalny zarówno pod względem diagnostycznym jak i prognostycznym w odległej obserwacji? Czy jednak rekomendowałaby Pani powtórzenie pomiarów, a jeśli tak to po jakim czasie od leczenia interwencyjnego OZW?*

Wnioski końcowe

Rozprawę doktorską lek. Karoliny Gumiężnej oceniam pozytywnie. Doktorantka wykazała przygotowanie do planowania badań naukowych, analizy ich wyników i wnioskowania na ich podstawie. Otrzymane wyniki mają istotną wartość poznawczą w obszarze doboru odpowiedniej spersonalizowanej terapii przeciwplatekowej u pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi leczonymi interwencyjnie.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa lek. Karoliny Gumiężnej spełnia warunki określone Ustawie z dnia 30 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz 1668 z późn. zm.)”. Niniejszym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Karoliny Gumiężnej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med. i n. o zdr. Beata Uziębło-Życzkowska