

Warszawa, dnia 13.08.2021

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Mateusza Dziemiańczuka pt. „Wzrost uwalniania mikrocząstek u pacjentów z wybranymi chorobami rozrostowymi krwi oraz ich korelacja z markerami układu hemostazy” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Piotra Radziwona

W przedstawionej do recenzji pracy Doktorant podjął się oceny wpływu uwalniania mikrocząstek u pacjentów z wybranymi chorobami rozrostowymi krwi oraz ich korelacji z markerami układu hemostazy.

Praca ma układ typowy dla rozpraw doktorskich. Liczy ogółem 55 stron i zawiera 130 pozycji piśmiennictwa, z których większość pochodzi z renomowanych czasopism zagranicznych i była opublikowana w ciągu ostatnich kilkunastu lat. Praca napisana jest poprawnym językiem. Tekst uzupełniony jest 10 rycinami i 8 tabelami. Czytanie pracy ułatwia zamieszczony na początku „Wykaz skrótów”.

W liczącym 13 stron „Wstępie” Doktorant opisuje budowę, pochodzenie, mechanizm powstawania i działania oraz znaczenie kliniczne mikrocząstek. Przedstawia również krótką charakterystykę chorób nowotworowych układu krwiotwórczego i chłonnego. „Wstęp” jest napisany w sposób przejrzysty, w oparciu o dobrze dobrane piśmiennictwo.

Doktorant w swojej pracy postawił do rozwiązania cel, jakim było określenie liczby mikrocząstek pochodzących z komórek krwi i śródbłonna oraz ich korelacji z wybranymi parametrami morfologii krwi i układu hemostazy u pacjentów z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego i chłonnego przed rozpoczęciem leczenia.

Materiałem do badań była krew żylna pobrana od 56 pacjentów z nowo rozpoznanymi nowotworami układu krwiotwórczego i chłonnego hospitalizowanych w Kliniki Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. W grupie badanej było 12 chorych z rozpoznaniem czerwienicy prawdziwej (PV), 10 chorych na nadpłytkowość samoistną (ET), 17 chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (CLL), 11 chorych na ostrą białaczkę mieloblastyczną (AML) oraz 6 chorych na szpiczaka plazmocytozy (MM). Grupę kontrolną stanowiło 7 zdrowych ochotników/dawców krwi. Badania morfologii krwi obwodowej, parametrów układu hemostazy (PT, APTT, stężenie fibrynogenu oraz D-dimerów) oraz oznaczenie mikrocząstek zostało wykonane w świeżych próbkach krwi pacjentów (maksymalnie do 1 godziny od pobrania materiału), natomiast oznaczenia stężenia kompleksów trombina-antytrrombina (TAT), plazmina-antyplazmina (PAP) i fragmentów protrombiny 1+2 (F1+2) wykonano w materiale pobranym na cytrynian sodu po uprzednim zamrożeniu w temperaturze -80°C . Liczbę mikrocząstek (MP) pochodzenia płytkowego (PMP), leukocyтарnego

(LMP), erytrocytarnego (ErMP) oraz śródbłonkowego (EndMP) oznaczano metodą fluorescencji bezpośredniej z wykorzystaniem cytometru przepływowego BD FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) z użyciem przeciwciał monoklonalnych charakterystycznych dla poszczególnych rodzajów mikrocząstek, tj. odpowiednio: anty-CD42b, anty-CD45, anty-CD235 oraz anty-CD144. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (nr R-I-002/38/2016).

W rozdziale „Wyniki” Doktorant przedstawił wyniki przeprowadzonych analiz statystycznych przy pomocy 10 rycin i 8 tabel. Wykazał w nich, że we wszystkich badanych jednostkach chorobowych występuje istotny statystycznie wzrost liczby wszystkich badanych typów mikrocząstek w odniesieniu do grupy kontrolnej. W wykonanej analizie korelacji zaobserwowano, że w przebiegu PV wzrost całkowitej liczby mikrocząstek koreluje z wydłużeniem APTT i z obniżeniem stężenia fibrynogenu. W przypadku ET wraz ze wzrostem liczby MP odnotowano skrócenie APTT i wzrost stężenia D-dimerów, natomiast u chorych na CLL widoczna była dodatnia korelacja liczby mikrocząstek i wydłużenia PT. W odniesieniu do korelacji pomiędzy poszczególnymi mikrocząstkami, niezależnie od rodzaju nowotworu, a parametrami hemostazy Doktorant zaobserwował dodatnią korelację liczby EndMP i PT oraz ujemną korelację liczby EndMP i stężenia fibrynogenu, a także dodatnią korelację między liczbą PMP a PCT. Istotne statystycznie dodatnie korelacje zaobserwowano także pomiędzy PMP a PLT u chorych na PV, ET oraz w całej grupie 56 chorych, jak również pomiędzy LMP i WBC u chorych na PV, a ujemną korelację pomiędzy LMP i WBC u chorych na MM.

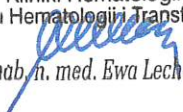
Przy opisywaniu wyników pracy Doktorant nie ustrzegł się kilku błędów. Mgr M. Dziemiańczuk opisując różnice statystyczne zaznaczał jedynie, że p było poniżej 0,05 nie podając dokładnych wartości p , co jest kluczowe dla pokazania siły obserwowanej istotności statystycznej. Opisując udział procentowy poszczególnych rodzajów mikrocząstek w osoczu badanych chorych (Tabela 3) Doktorant posługuje się określeniem, że np. liczba ErMP była największa, czy dominowała pośród pozostałych cząsteczek, ale nie wspiera tych porównań żadną analizą statystyczną, choćby testem chi-kwadrat. Na Rycinie 9 nie zaznaczono, czy istnieją różnice statystyczne pomiędzy liczbą poszczególnych mikrocząstek, a taki był zapewne cel prezentacji tych wyników. Z kolei na Rycinie 10 przedstawiono zestawienie liczby wszystkich badanych typów mikrocząsteczek we wszystkich grupach pacjentów w odniesieniu do grupy kontrolnej pokazując tylko tę jedną zależność statystyczną. Interesujące byłoby porównanie liczby poszczególnych typów mikrocząstek pomiędzy grupami pacjentów i przedstawienie tych analiz statystycznych. W opisie Tabeli 4 błędnie podano poziom istotności $p > 0,05$. Ponadto na stronie 37 rozprawy doktorskiej wydaje się, że nie zostały wydrukowane wszystkie wyniki, gdyż pod podtytułem 4.4.6. nie ma ani tabeli ani tekstu. Informacja podana w podtytule 4.4.6. dotycząca dodatniej korelacji ($r=0,88$) pomiędzy zsumowaną liczbą

wszystkich badanych typów mikrocząstek a całkowitą liczbą komórek krwi pojawia się również w streszczeniu pracy.

Uzyskane wyniki własne Doktorant omawia w „Dyskusji” w kontekście wyników opublikowanych przez innych Autorów, podkreślając nowatorski charakter części własnych obserwacji. Na zakończenie pracy Doktorant przedstawił 4 wnioski. Przed ostateczną publikacją pracy wymagają one jednak pewnej modyfikacji. We wniosku nr 2 chodziło Doktorantowi zapewne o korelacje pomiędzy mikrocząstkami uwalnianymi do osocza a liczbą komórek krwi obwodowej. Z kolei wniosek nr 3 wymaga doprecyzowania w jakich nowotworach obserwowano dodatnią korelację pomiędzy liczbą mikrocząstek a rodzajem komórek krwi obwodowej, bo zależność ta nie dotyczyła wszystkich badanych grup chorych. Wniosek nr 4 w opinii recenzenta nie znajduje uzasadnienia w prezentowanych wynikach, gdyż na podstawie prostych korelacji pomiędzy parametrami układu krzepnięcia w niewielkich grupach chorych a grupą kontrolną trudno dowodzić i jednoznacznie stwierdzić, że wszystkie analizowane choroby indukują zaburzenia układu hemostazy. Owszem zaburzenia układu hemostazy są obserwowane u części chorych z analizowanymi nowotworami, ale patogeneza tych zaburzeń jest bardziej złożona i dotyczy tylko wybranych podgrup chorych. Dlatego też wniosek nr 4 powinien być sformułowany ostrożniej z zaznaczeniem potencjalnej roli mikrocząstek w powstawaniu zaburzeń hemostazy, co zresztą Doktorant w bardzo ciekawy sposób przedstawia w Dyskusji rozprawy.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że nowatorskim elementem pracy doktorskiej było oznaczenie wszystkie typów mikrocząstek wydzielanych przez komórki krwi i śródbłonna w przebiegu nowotworów hematologicznych oraz ocena korelacji pomiędzy poszczególnymi podtypami mikrocząstek a liczbą komórek krwi, których nadmierna proliferacja występuje w analizowanych nowotworach, a także parametrami morfologii krwi i układu hemostazy. Niewątpliwie przedstawione przez Doktoranta wyniki są interesujące i wymagają dalszych badań na większej grupie chorych wraz z określeniem potencjalnych korelacji pomiędzy uwalnianymi mikrocząstkami a zaawansowaniem choroby i przebiegiem klinicznym. Podsumowując pozytywnie oceniam przedstawioną rozprawę doktorską. Doktorant zrealizował założone cele pracy. Praca zawiera aspekt poznawczy i może stanowić podstawę do dalszych badań.

Mam zaszczyt przedstawić Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku recenzję pracy i prosić o dopuszczenie mgr Mateusza Dziemiańczuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Kliniki Hematologii
Instytutu Hematologii i Transfuzjologii

Prof. dr hab. n. med. Ewa Lech-Marańda