



# UNIwersytet Medyczny

## IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii

Kierownik: dr hab. n. med. Waldemar Goździk, profesor UMW

Wrocław 12.07.2021

Ocena rozprawy doktorskiej pt.  
„Ocena zaburzeń krzepnięcia z wykorzystaniem globalnych testów  
hemostazy u chorych dializowanych”  
lek. med. Jana Pluty

Zaburzenia układu krzepnięcia w obecnej dobie szeroko stosowania leków ingerujących w układ krzepnięcia stanowią poważny problem współczesnej anestezjologii i intensywnej terapii. Szybka identyfikacja zagrożenia powikłaniami krwotocznymi lub zakrzepowymi oraz wdrożenie postępowania hemostatycznego, uwzględniającego wszystkie czynniki wynikające ze złożonych wielodyscyplinarnych problemów zdrowotnych i terapeutycznych wymagają często bardzo przemyślanej i złożonej strategii postępowania okołozabiegowego.

Dostępne obecnie narzędzia diagnostyczne, algorytmy postępowania i skale rokownicze oraz przesiewowe badania układu krzepnięcia często tylko w niewielkim stopniu oddają obraz złożonych zaburzeń krzepnięcia i fibrynolizy. W ostatnich latach obserwujemy coraz szersze wykorzystanie nowych skutecznych narzędzi diagnostycznych, które wychodzą naprzeciw tym wyzwaniom. Należą do nich globalne testy hemostazy, spełniające kryteria testów przyłóżkowych, tzw. POCT (point of care testing), takich jak rotacyjna tromboelastometria i wieloelektrodowa agregometria impedancyjna.

Szczególną grupę w tej populacji stanowią chorzy ze schyłkową niewydolnością nerek leczeni hemodializami. Zarówno choroba podstawowa jak i metoda terapii mogą skutkować u nich często bardzo złożonymi zaburzeniami hemostazy, prowadzącymi zarówno do występowania krwotoków jak i powikłań zakrzepowych.

Podjęty przez Doktoranta temat jest w związku z tym bardzo aktualny, podejmuje bowiem próbę oceny codziennej praktyki klinicznej w tym zakresie, na reprezentatywnej grupie pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych hemodializami w Stacji Dializ Szpitala Klinicznego Dzieciątka Jezus, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Przedstawiona do mojej recenzji praca została przygotowana w oparciu o cykl czterech spójnych tematycznie publikacji w recenzowanych czasopismach medycznych. Na cykl publikacji stanowiący pracę doktorską składają się dwie prace oryginalne, praca pogładowa oraz analiza przypadków klinicznych.

---

Wszystkie obejmują tematykę zagadnień monitorowania zaburzeń hemostazy z zastosowaniem rotacyjnej tromboelastometrii i wieloelektrodowej agregometrii impedancyjnej. Prace oryginalne obejmują ocenę pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych hemodializami .

1. Assessment of the Hemostatic Parameters and Platelet Function on Thromboelastometry and Impedance Aggregometry in Hemodialysis Patients Qualified for Kidney Transplantation: Preliminary Report. *Transplantation Proceedings*. 2016. IF= 0,908, MNiSW = 15 punktów.
2. Multiple electrode aggregometry as a method for platelet function assessment according to the European guidelines. *Anaesthesiology Intensive Therapy*. 2018. MNiSW = 14 punktów.
3. The assessment of platelet function using multiple electrode aggregometry in practical procedures in anaesthesia. *Anaesthesiology Intensive Therapy*. 2018.. MNiSW = 14 punktów.
4. Assessment of haemostasis and impact of fibrinogen supplementation on clot properties using global haemostasis assays in patients on chronic dialysis. *Anaesthesiology Intensive Therapy*. 2020. MNiSW = 70 punktów.

We wszystkich tych publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym.

Manuskrypt obejmuje 49 stron z podziałem na poszczególne rozdziały. Zawiera wykaz stosowanych skrótów, streszczenia w językach polskim i angielskim, wstęp, opis celów badawczych pracy ,kopie opublikowanych prac, podsumowanie ,wnioski , piśmiennictwo oraz kopię opinii Komisji Bioetycznej. Dodatek zawiera oświadczenia wszystkich współautorów publikacji określające indywidualny wkład każdego z nich w ich powstanie.

Wstęp w formie bardzo skondensowanej przedstawia problemy zaburzeń hemostazy u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek, wymagających przerywanych terapii nerkozastępczych. Omawia założenia hipotezy badawczej i uzasadnia jej wykorzystanie w ocenie przydatności stosowania ex-vivo koncentratu fibrynogenu u pacjentów z ciężką trombocytopenią jako elementu poprawy spójności skrzepu kompensującego ilościowe zaburzenia płytek krwi w tej grupie pacjentów.

Cele prezentowanego cyklu prac zostały jasno sprecyzowane i przedstawiono je w czterech punktach. Były to :

- Ocena profilu hemostatycznego z wykorzystaniem globalnych testów hemostazy i standardowych badań laboratoryjnych u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek poddawanych przewlekłej, przerywanej hemodializie .
- Ocena zaburzeń funkcji płytek krwi u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych przewlekłymi dializami.
- Ocena wpływu *in vitro* suplementacji fibrynogenem na poprawę jakości skrzepu krwi chorych z SNN.
- Ocena wpływu SNN oraz przewlekłych HD na występowanie hiperfibrynolizy.

W pierwszej z prac wchodzących w skład cyklu publikacji przeprowadzono prospektywne badanie kliniczne u 17 pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek , a uzyskane wyniki porównano z grupą kontrolną 13 zdrowych ochotników. Opisano wieloczynnikowy charakter zaburzeń krzepnięcia w grupie pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek . Wyniki standardowych badań laboratoryjnych wykazały występowanie istotnego statystycznie obniżenia średniej liczby płytek krwi (184 G/L vs 228

---

G/L,  $p=0,029$ ) względem grupy zdrowych ochotników. W wynikach globalnych testów hemostazy zaobserwowano odchylenia w teście FIBTEM (A20) opisującym zdolność fibrynogenu do polimeryzacji, który w 20 minucie testu wykazał istotnie wyższą wartość w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną (22,3 mm vs 16,7 mm,  $p=0,004$ ). W wynikach wieloelektrodowej agregometrii impedancyjnej stwierdzono zaburzenia agregacji płytek krwi w zakresie aktywności receptora GPIIb/IIIa, badanego testem TRAP. W grupie badanej wartość ta była istotnie niższa w porównaniu do grupy kontrolnej (814 AU\*min vs 1130 AU\*min,  $p=0,038$ ).

W ostatniej publikacji z cyklu, którą należałoby traktować jako kontynuację pracy nr. 1, co potwierdzają autorzy w podziękowaniach w oryginalnym artykule na stronie 249, podsumowano wyniki profilu hemostatycznego 22 pacjentów przewlekle dializowanych (grupa badana) i 22 zdrowych ochotników (grupa kontrolna) odnosząc je i porównując do wyników przeprowadzonego w warunkach *in vitro* eksperymentu medycznego, w którym oceniano wpływ suplementacji fibrynogenem na poprawę funkcji płytek krwi. Ocena tromboelastometryczna skrzepu dokonana przed suplementacją fibrynogenu wykazała w grupie badanej istotne wydłużenie CT EXTEM w porównaniu z grupą kontrolną (72 s vs 56 s,  $p=0,01$ ). EXTEM, FIBTEM i TRAPtest powtórzono dla wszystkich próbek krwi z 80  $\mu$ l koncentratu fibrynogenu *in vitro*. Wyniki porównano z wartościami wyjściowymi (przed podaniem fibrynogenu) w celu określenia jego wpływu na tworzenie skrzepów i agregację płytek krwi. Wyniki testu MCF FIBTEM, który był znamienne wyższy w grupie badanej (22 mm vs 16 mm,  $p=0,001$ ), potwierdzają obserwacje dokonane w pierwszej pracy cyklu, gdzie istotność taką stwierdzono w bardzo zbliżonym okresie A20 FIBTEM (22.3 6.0 vs 16.7 3.7,  $P = 0.004$ ). Analizowane grupy nie wykazywały istotnych różnic pod względem liczby płytek krwi oraz wyników koagulogramu, za wyjątkiem istotnie wydłużonego czasu trombinowego w grupie badanej względem grupy kontrolnej (15,7 s vs 14,1 s,  $p=0,001$ ). Istotną różnicę w agregacji płytek krwi na niekorzyść grupy badanej ponownie zaobserwowano w zakresie aktywności receptora GPIIb/IIIa, badanego testem TRAP (922 AU\*min vs 1062 AU\*min,  $p=0,026$ ). Po wykonaniu eksperymentu w warunkach *in vitro* stwierdzono nie tylko brak poprawy, ale wręcz ograniczenie agregacji płytek krwi w wynikach TRAPtestu w obydwu analizowanych grupach, co zaprzeczyło postawionej hipotezie o korzystnym wpływie suplementacji fibrynogenem na agregację płytek krwi. Niewątpliwy wpływ na uzyskane wyniki mogły mieć warunki *in vitro* przeprowadzonych badań, co autor omawia w dyskusji wskazującej na bardzo dużą wiedzę i znajomość tematu.

Na podstawie analizy przedstawionych prac oryginalnych nasuwa się kilka uwag i pytań.

Czy wszyscy pacjenci badani w pierwszej pracy (*Transplantation Proceedings*. 2016.) zostali uwzględnieni w badaniu prezentowanym w (*Anaesthesiol Intensive Ther* 2020; 52, 4: 274–280), a jeżeli nie to jakie były powody ich wykluczenia z badania ?

Uzyskane w obu pracach wyniki wykazały pewne istotne statystyczne różnice między badanymi grupami, które stwierdzano lub nie w badaniu wcześniejszym np. PLT 184 103/L vs 228 103/L,  $P = 0,029$ . (*Transplantation Proceedings*. 2016). CT EXTEM w pracy (*Anaesthesiol Intensive Ther* 2020; 52, 4: 274–280), A20 FIBTEM, MCF FIBTEM w obu pracach, te okresy obserwacji są bardzo zbliżone do siebie, niemniej jednak nie są jednoznaczne.

Większość pacjentów z grupy badanej przyjmowało ASA, czy ASPtest test wykonywano również w badaniu pierwszym ?

---

Uwagi te nasuwają się po lekturze obu niewątpliwie bardzo wartościowych prac i w żadnym stopniu nie umniejszają ich wartości naukowej, potwierdzającej kluczowe problemy hemostazy pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych hemodializami. Niewątpliwym wpływem na uzyskane wyniki miała wielkość badanych grup, co jest jednym z podstawowych problemów badań klinicznych wykonywanych w ramach zadań statutowych jednostki.

W drugiej, poglądowej pracy cyklu scharakteryzowano wieloelektrodową agregometrię impedancyjną. Przedstawiono jej aspekt teoretyczny, opisując dostępne testy diagnostyczne badające aktywność poszczególnych receptorów płytkowych. Prace zobrazowano graficznie na materiale własnym, przykładowymi wynikami testów z wykorzystaniem analizatora Multiplate. Przedstawiono i omówiono najnowsze doniesienia naukowe poświęcone metodom oceny funkcji płytek krwi, uwzględniając aktualne wytyczne europejskich towarzystw naukowych uznających agregometrię jako ważne narzędzie wspierające stratyfikację ryzyka zaburzeń hemostatycznych w okresie okołoperacyjnym i pourazowym. Metoda stosowana u pacjentów przyjmujących leki przeciwplatekcyjne lub u pacjentów z czynnymi krwawieniami po urazach wielonarządowych dostarcza istotnych klinicznie informacji, które mogą zmniejszyć ryzyko powikłań krwotocznych i zakrzepowozatorowych.

Doktorant zakwalifikował trzecią publikację w cyklu do grupy prac oryginalnych, jednak w opinii recenzenta spełnia ona bardziej kryteria pracy o charakterze opisu przypadków klinicznych.

Jest to praca bardzo wartościowa ze względu na jej praktyczny aspekt kliniczny. Opisano trzy przypadki zastosowania wieloelektrodowej agregometrii impedancyjnej do indywidualnej oceny potencjału hemostatycznego u pacjentów, z bardzo złożonymi problemami zdrowotnymi, u których zastosowanie agregometrii dostarczyło kluczowych z punktu widzenia klinicznego informacji, determinujących modyfikację procesu terapeutycznego. Różnorodność i wielowarstwowość problemów klinicznych przedstawionych przypadków obrazuje przydatność metody jako niezbędnego przyłóżkowego narzędzia diagnostycznego w codziennej praktyce anestezyjologicznej.

Na podstawie przeprowadzonej analizy sformułowano pięć wniosków, w pełni korespondujących z celami badania i uzyskanymi wynikami.

#### Wnioski

- Zaburzenia hemostazy obserwowane u pacjentów ze SNN poddawanym przewlekłym HD są zjawiskiem złożonym i dotyczą zarówno komponentu osocznego jak i płytkowego.
- Monitorowanie hemostazy u chorych ze SNN przy wykorzystaniu GTH ma większy potencjał diagnostyczny niż SBL.
- Zaburzenia w układzie krzepnięcia obserwowane w grupie chorych dializowanych obejmowały wzmożoną polimeryzację fibrynogenu przy jednoczesnym ograniczeniu procesu agregacji płytek krwi.
- Suplementacja koncentratem fibrynogenu w warunkach *in vitro* nasiliła zaburzenia agregacji płytek krwi u pacjentów ze SNN.
- W przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano zaburzeń w procesie fibrylizacji u chorych dializowanych.

---

W podsumowaniu

Wcześniejsze uwagi nie umniejszają w żadnym stopniu wartości naukowej i poznawczej przygotowanej pracy doktorskiej. Doktorant wykazał się w niej bardzo dużą wiedzą teoretyczną i kliniczną, umiejętnie i z dużą swobodą poruszając się w bardzo złożonych i wielodyscyplinarnych zagadnieniach medycznych.

Mając na względzie wykazany potencjał naukowy i doświadczenie kliniczne, zachęcałbym Doktoranta do kontynuacji badań poświęconych tej tematyce.

Oceniana praca jest oryginalnym opracowaniem naukowym. Wartość poznawcza przeprowadzonych badań jest duża.

W oparciu o powyższą opinię stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana lek. med. Jana Pluty pt. „Ocena zaburzeń krzepnięcia z wykorzystaniem globalnych testów hemostazy u chorych dializowanych” 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 póź. zm). Zwracam się w związku z tym do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. med. Jana Pluty do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Waldemar Górecki

