

OPPONENSI VÉLEMÉNY

DR. BAGOLY ZSUZSA: „HEMOSZTÁZIS VIZSGÁLATOK CEREBROVASZKULÁRIS KÓRKÉPEKBEN: ÚJ BIOKÉMIAI ÉS KLINIKAI VONATKOZÁSOK”

című MTA Doktori értekezéséről

A jelölt értekezése alapjául 20 közleményt jelöl meg, melyek közül négy D1, hét Q1, kilenc Q2 kategóriájú folyóiratban jelent meg. A jelölt 10 közleményben utolsó, 7-ben pedig első szerző.

Szintén nem tartozik a doktori mű közvetlen tartalmi értékeléséhez, de a jelölt kiemelkedő tudományos tevékenységének érzékeltetéséhez fontosnak tartom kiemelni azt is, hogy az említett 20, jelen értekezés alapjául szolgáló közlemény mellett, PhD fokozatának megszerzése óta megjelent további - 41 közlemény szerzője, társszerzője, ezek közül 8-ban első szerző, ezen közlemények fele (D1:4 Q1:16) besorolású. Kiemelném továbbá, hogy jelölt kutatói tehetsége korán megmutatkozott, hiszen már a PhD fokozatszerzés előtt megjelent négy publikációjából is egy D1, 3 Q1 besorolású. Megemlíteném még, hogy a jelölt közleményeinek független idézettsége (a pályázó által csatolt MTMT adatlap szerint 2023.12.01.) 1282 volt, ami ezen bírálat írásakor (kevesebb mint egy év elteltével) 1386, azaz több mint 100 független idézettel emelkedett, ami objektíven tükrözi jelölt tudományos eredményeinek nemzetközi reputációját.

Azért tartottam fontosnak az említett (bárki által elérhető, ellenőrizhető adatok) hangsúlyozását, mert bizonyítják, hogy a jelölt folyamatosan képes új tudományos eredmények elérésére, folyamatos magas színvonalú publikációs tevékenységre. Mindezek munkássága hitelességét is bizonyítják, aminek manapság egyre nagyobb a jelentősége, gondolok itt az utóbbi évek sajnálatos kutatásetikai válságára pl. legmagasabb reputációjú lapokból – nem kerülöm ki a szót – adathamisítás miatt visszavont cikkekre, a mesterséges intelligenciával történő visszaélésre, - „predátor” folyóiratok, „publikációs gyárak” („research paper mill”) megjelenésére (lásd még: https://en.wikipedia.org/wiki/Research_paper_mill).

Visszatérve a doktori műre:

A mű egy rövid „Előszóval” kezdődik, amiben a jelölt azon túlmenően, hogy hitet tesz „hemosztázis iránti rajongás”-áról, tömör és logikus indoklását is adja témaválasztása fontosságának „míg az egyéb aterotrombózis rizikófaktorok pl. diabetes mellitus, hiperlipidémia vagy hipertónia esetén a terápia hatékonyságának ellenőrzése minden esetben megtörténik, a hemosztázisra ható készítmények hatását sok esetben nem vizsgáljuk, nem monitorozzuk. Az értekezésben összefoglalt eredmények alapját hemosztázis biokémiai és laboratóriumi ismeretek adják, de reményeink szerint kutatásaink hosszú távon közvetlenül is a betegek gyógyulását szolgálják majd.”

Az előszóval kiváltott „captatio benevolentiae”-t, némileg mérsékli azonban a követő oldalakon található rövidítések jegyzéke: a jelölt több mint 110 (ha jól számoltam 117) rövidítést használ, ami nem könnyíti meg – a köszönetnyilvánítás és irodalomjegyzékek nélkül is 173 oldalas – értekezés olvasását (szerencsére a kereső-program a a mű letölthető elektronikus változatában működik....).

Másrészt viszont hasznos formai-szerkesztési megoldásnak tartom, hogy az „Eredmények” fejezet minhárom alfejezetének végén megtalálható „A részeredmények rövid összefoglalása”, a vonatkozó szakcikkek megadásával.

A bevezetés (összességében 43 oldal) a hemosztázis rendszerrel a stroke-al , a pitvarfibrillációval kapcsolatos, a doktor mű szempontjából releváns ismereteket foglalja össze a leírtak megértését 19. kitűnő ábrával és 6 táblázattal segíti, az ábrák különösen sokat segítenek a hemostasis bonyolult rendszerének megértésében.

A következő fejezetben a doktori mű fő célkitűzéseit fogalmazza meg a jelölt, amelyek:

- Hemosztázis vizsgálatok akut ischaemiás stroke (AIS) betegekben az intravénás trombolízis kimenetelének vizsgálatára. Experimentális vizsgálatok a fibrinolízis regulációjának jobb megértése érdekében.
- Hemosztázis vizsgálatok a vérlemezke gátló terapiák hatástalanságának felismerésére.
- Hemosztázis vizsgálatok pitvarfibrilláló betegekben a tromboembóliás szövődmények (stroke rizikó) jobb megértése érdekében.

A célkitűzéseket minden területen számos pontban tovább részletezi (ezek ismertetésétől időhiány miatt eltekintek), de kiemelném, hogy a célkitűzéseknek megfelelő vizsgálatok a

„Betegek és Módszerek” fejezetben leírtak alapján korrekten megtörténtek.

Megjegyzéseim és kérdéseim:

- 1) 30. oldalon „Az állományvérzés (intracerebrális hemorrhagia: ICH) kialakulásának leggyakoribb okai: a magasvérnyomás (30-60%), az agyi amyloid angiopathia ill. arteritis (10-30%), antikoaguláció ill. véralvadási zavar (1-20%)” - konkrétan milyen véralvadási zavarra/zavarokra gondol?
- 2) 40. oldalon írja, hogy „a terápia hatástalanságához vezető „magas kezelés alatti trombocita reaktivitás” (“high on-treatment platelet reactivity”) a különböző tanulmányok esetén 10-50%-ban fordult elő, legtöbbször 30-40%-ban volt jelen a clopidogrelre metabolikus okok miatt rezisztens betegek a rekurrens ischaemiás események magas kockázatának vannak kitéve”. Mit ért konkrétan „metabolikus okok” alatt? Logikusnak tűnik, hogy a „magas kezelés alatti trombocita reaktivitás” miatt rezisztens betegek „rekurrens ischaemiás események magas kockázatának vannak kitéve”. Ezzel a kijelentések kapcsolatban kérdésem az, hogy van-e (ismer-e) olyan randomizált kontrollált vagy bármilyen más típusú (obszervációs, retrospektív stb) klinikai vizsgálatot/vizsgálatokat ami ezt bizonyítja?
- 3) 42. oldalon írja: „Annak ellenére, hogy nincs érvényben lévő szakmai ajánlás, a clopidogrel hatásának tesztelése fontos lehet olyan válogatott betegekben, akik akár szakmai (fokozott vérzéses kockázat, orális antikoaguláns kezelés, agyi történés, stb.), akár finanszírozási okok miatt nem kaphatnak ticagrelort vagy prasugrelt”. Kérdéseim: Mit ért konkrétan fokozott vérzési kockázat alatt? Alkalmasnak tartja ennek megítélésére a 6. táblázatban ismertetett HAS-BLED skálát?
- 4) Az 55. oldalon 4.1.1. alfejezetben három, ischaemiás stroke betegek bevonásával végzett vizsgálat felépítését ismerteti. A leírás korrekt, de a részletek átlátását-megértését egy táblázat segíthette volna.
- 5) 70.. oldal: „Kontroll csoportként 140 egészséges önkéntest válogattunk be a vizsgálatba, akik semmilyen trombocita funkciót befolyásoló szert nem szedtek,, - itt „csak” a törzskönyvezett thrombocita aggregáció gátlókra gondol? Vagy szélesebb gyógyszer körre? A clopidogrelt például véve: „A clopidogrel egy pro-drug, mely a májban, a citokróm P450

(CYP) rendszer enzimek segítségével, kétlépéses reakcióban alakul át aktív metabolitá” írja helyesen másutt. A citokróm P450 (CYP) rendszer enzimek aktivitását számos, a májban metabolizálódó gyógyszer is befolyásolja, ami értelem szerűen befolyásolhatja a clopidogrél metabolizmusát is, tehát szeretném ha pontosítaná, hogy mit ért „semmilyen trombocita funkciót befolyásoló szer” megfogalmazás alatt (voltak olyan kontroll csoportba tartozók akik semmilyen gyógyszert nem szedtek? vagy csak olyan szereket szedtek, amelyek a májban nem metabolizálódnak, és a vesén intaktan ürünek pl. gabapentin, pregabalin (?), vagy ellenőrizték (pl. a „PharmindeX”-ben) az adott kontroll-egyen által szedett gyógyszer és a clopidogrél interakciós potenciálját?

6) 23 és 25. táblázatokban szereplő adatokkal kapcsolatban: 23. táblázat „Az egészséges önkéntesek és a nem traumás intracerebrális vérzéses stroke-ot (ICH) elszenvedett betegek alapadatainak, és alvadék lízis (CLA, mCLA) paramétereinek összehasonlítása” 25. táblázat „Clopidogrel monoterápián lévő betegek és kontrollok alapvető klinikai adatai”. Mind a két táblázat szerint magasan szignifikáns különbség van az összehasonlított betegcsoportok életkora között. 23. táblázatban az betegek átlag életkora $68 \pm 11,6$ év, míg az egészséges önkénteseké $44 \pm 11,7$, a 25. táblázatban a betegek $61,6 \pm 10,4$ a kontrollok $43,3 \pm 18,0$ évesek. A jelölt a 166. 169. oldalon a limitációk közt említi „alapvető antropometriai különbségek (pl. kor)” -t, de a vizsgálataik nem mutattak korfüggést. A természetes öregedés számos életfunkciónk jelentős változásával jár (pl. <https://doi.org/10.1172/JCI158451>), így szeretném ha független szakirodalmi adatokkal is alátámasztaná (ha vannak ilyenek) a „korfüggés hiányát” az említett kontrollcsoportban vizsgált paraméterek tekintetben.

7) A jelölt munkacsoportja által kidolgozott (és publikált), a clopidogrel hatás tesztelésére alkalmasnak bizonyuló, módosított, prostaglandin E1 (PGE1)-et tartalmazó adozin-5'-difoszfát (ADP)-indukálta trombocita aggregációs módszert reprodukálta-e (reprodukálták-e) független munkacsoport, munkacsoportok? Továbbá kérdezném, hogy a jelölt által részletezett előnyökre, újdonságokra tekintettel miért nem szabadalmaztatták módszerüket?

ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1) Elsőként írták le nagylétszámú ($n > 130$), intravénás trombolízisben részesülő akut ischaemiás stroke betegek kohorszában, hogy a VIII-as véralvadási faktor aktivitás, a plazminogén aktivátor inhibitor-1 aktivitás és [alfa]2-Plasmin inhibitor aktivitás közvetlenül trombolízis után nagymértékű, szignifikáns csökkenést mutattak.

3. Többváltozós logisztikus regressziós modellt alkalmazva igazolták, hogy a trombolízist követően azonnal és 24 órával később detektált emelkedett VIII-as véralvadási faktor és von Willebrand faktor antigén szintek a rossz hosszú távú kimenetel független rizikótényezői.

4. Igazolták, hogy a VIII-as véralvadási faktor Val34Leu polimorfizmusa jelentős hatással volt az alvadék méretére in vivo és in vitro kísérletes körülmények között egyaránt.

Többváltozós analíziseik eredménye alapján azt találták, hogy az intravénás trombolízis sikerének meghatározó tényezői a stroke súlyossága ill. maga a trombus mérete.

(Ezzel a megállapításukkal egybehangzik egy 2024-ben megjelent klinikai randomizált kontrollált vizsgálat is eredménye is: Az akut CT-n sztenderdizált AI programmal igazolt nagykiterjedésű (ASPECTS score 4–5) ischaemiás léziók esetén thrombolysis alkalmazása után nem észleltek klinikai javulást (doi:10.1001/jama.2024.13933)

5. A hemorrhagiás transzformációval a vizsgált hemosztázis paraméterek közül a felvételnél mért alacsony α 2-PI, valamint lízis utáni emelkedett VWF antigén szintek szignifikáns kapcsolatot mutattak. Kimutatták továbbá PAI-1 5G/5G genotípus a lízist követő intrakraniális vérzés független prediktora.

6. Kidolgoztak, egy prostaglandin E1 (PGE1)-et tartalmazó adenzin-5'-difoszfát (ADP)-indukálta trombocita aggregációs módszert, mely a clopidogrel hatás tesztelésére alkalmasnak bizonyult. A teszt P2Y12 receptor specifikus, megbízható, könnyen elvégezhető és olcsó. A teszt jó korrelációt mutatott a vazodilatátor stimulált foszforprotein (VASP) foszforilációs teszt eredményével és magas diagnosztikus hatékonyságot mutatott clopidogrel monoterápián lévő betegekben. A hagyományos ADP-indukálta aggregációval szemben a teszt nem érzékeny aszpirin hatására és javasolható kettős trombocitaagátló terápián lévő betegek vizsgálatára is.

7. Pitvarfibrilláló betegek és nem pitvarfibrilláló kontrollok intrakardiális és perifériás vérmintáiból megvizsgálva a hemosztázis és fibrinolitikus rendszer egyes markereit megállapították, hogy a VIII-as véralvadási faktor (FVIII) aktivitás és a von Willebrand (VWF) antigén szint a pitvarfibrilláló betegekben szignifikánsan emelkedett a kontrollokhoz képest mind az intrakardiális, mind a perifériás vérmintákban. Az FVIII aktivitás és VWF szintek közötti jó korreláció arra utalt, hogy a magas szintek háttérében endothel károsodás állhat.

8. Eredményeik igazolták, hogy a cryobalonnal végzett pulmonális véna izoláció előtt a megszakítás nélküli orális antikoaguláns kezelés jelentősen gátolja a hemosztázis

aktiválódását, valamint a dabigatran hatásosabb gátlást biztosít az intrakardiális hemosztázis aktivációja és következményes fibrinolízissel szemben, mint a vascularis adhézios molekula-1 (VKA). A cryoballon abláció az alkalmazott preoperatív antikoagulálástól függetlenül jelentős endothel aktivációt okozott, amit az emelkedett VIII-as véralvadási faktor (FVIII) aktivitás és von Willebrand faktor (VWF) szintek jeleztek az abláció utáni vérmintákban. Az eredmények felhívják a figyelmet az antikoaguláció fontosságára a posztablációs időszakban is.

A jelentős új ismereteket leíró, formailag idényesen megalkotott értekezés nyilvános vitára bocsátását javaslom.

Pécs, 2024. november 18.



Dr, Komoly Sámuel

MTA doktora