

Prof. dr hab. med. Jerzy R. Kowalczyk

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Anny Duszy p.t. Ocena stopnia ekspresji genu VNN-1 (Vanin-1) u dzieci z pierwotną małopłytkowością immunologiczną.

Objawy skazy krwotocznej u dziecka zawsze powodują ogromny niepokój zarówno rodziny, jak i lekarza pierwszego kontaktu. Dlatego w każdym takim przypadku konieczna jest szybka diagnostyka, przede wszystkim aby wykluczyć proces rozrostowy szpiku lub zaburzenia w układzie krzepnięcia krwi. W większości przypadków stwierdza się jednak izolowane zmniejszenie liczby płytek krwi jako przyczynę objawów skazy krwotocznej, co pozwala ukierunkować dalsze postępowanie diagnostyczne i ewentualnie leczenie. U większości tych dzieci można ostatecznie rozpoznać t.zw. małopłytkowość immunologiczną, najczęściej ustępującą samoistnie bez jakiegokolwiek leczenia. Jednakże u ok. 20% dzieci choroba przechodzi w postać przewlekłą, często nie odpowiadającą na różne formy leczenia. Z tego względu wiele zespołów badawczych na świecie próbuje określić czynniki wpływające na przebieg choroby oraz opracować optymalne sposoby postępowania. Pomimo tego nasza wiedza dotycząca wielu aspektów małopłytkowości immunologicznej jest wciąż niewystarczająca do określenia rokowania w poszczególnych przypadkach. Dlatego uważam, że podjęcie przez lek.med. Annę Dusza próby oceny ekspresji genu VNN-1 u dzieci z pierwotną małopłytkowością immunologiczną jest w pełni uzasadnione i zasługuje na najwyższe uznanie. Wyniki badań przeprowadzonych przez dr Annę Dusza przedstawione zostały w przekazanej mi do oceny rozprawie doktorskiej.

Celem pracy była ocena ekspresji genu VNN-1 u dzieci w momencie rozpoznania pierwotnej immunologicznej małopłytkowości i określenie związku pomiędzy ekspresją tego genu z mianem pobranych jednocześnie przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) oraz przebiegiem klinicznym choroby. Projekt został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (numer zgody: KB/152/2015). Każdorazowo przed włączeniem do badania, uzyskiwano na piśmie od prawnych opiekunów dziecka dobrowolną, świadomą zgodę na udział w badaniu, a u dzieci powyżej 16 roku życia również zgodę pisemną pacjenta.

Badaną grupę stanowiło 78 dzieci leczonych w Katedrze i Klinice Onkologii, Hematologii Dziecięcej, Transplantologii Klinicznej i Pediatrii WUM oraz w Klinice Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii UM w Łodzi. Ponadto badania ekspresji VNN-1 wykonano u 26 dzieci, które nie miały żadnych objawów infekcji, i u których liczba płytek mieściła się w normie dla wieku.

Rozprawa doktorska lek. med. Anny Duszy liczy ogółem 86 stron maszynopisu, zawiera 19 tabel i 12 rycin. Stanowią one czytelną ilustrację pracy i są wykonane bardzo starannie. Piśmiennictwo liczy 141 pozycji polskich i obcojęzycznych, w większości z ostatnich 15 lat. Piśmiennictwo jest właściwie wykorzystane w tekście, jednakże zalecałbym uporządkowanie zapisu: w części publikacji podawanych jest 4-6 współautorów, w innych tylko pierwszy autor. Praca jest podzielona na następujące części: „Wstęp”, „Założenia i Cel pracy”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Piśmiennictwo”. Ponadto w pracy zamieszczono wykaz użytych skrótów, spis rycin, oraz streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Redakcyjny podział pracy na rozdziały i ich wzajemne proporcje objętościowe nie budzą zastrzeżeń.

We „Wstępie” doktorantka przedstawiła najważniejsze informacje dotyczące roli płytek krwi w organizmie człowieka. Następnie przestawiła przegląd wszystkich aspektów klinicznych pierwotnej małopłytkowości immunologicznej, w tym epidemiologii i etiopatogenezy, objawów klinicznych i diagnostyki. Szczególne uznanie budzi część dotycząca leczenia, w której doktorantka szeroko przedstawiła aktualnie dostępne metody postępowania i międzynarodowe rekomendacje. W kolejnej części Wstępu przedstawione zostały dotychczasowe wyniki badań oceniających zmiany genetyczne w pierwotnej małopłytkowości immunologicznej. Przedstawione wyniki badań nad ekspresją genu VNN-1 stanowią dobrą ilustrację założeń pracy lek. Anny Duszy. Cel pracy został przedstawiony w sposób jasny, precyzyjny i nie nasuwający żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale pt. „Materiał i metodyka” doktorantka przedstawiła charakterystykę badanych pacjentów. Okres obserwacji dzieci z grupy badanej wynosił 12 miesięcy, co pozwoliło na kwalifikację ich do poszczególnych postaci ITP. W rozdziale tym dokładnie opisano metody pobierania i przygotowania materiału do badań oraz metodykę oceny ekspresji genu VNN-1 na poziomie mRNA. Na końcu tego rozdziału przedstawiono też zastosowane metody analizy statystycznej uzyskanych wyników badań.

Wyniki własnych badań doktorantka przedstawiła w odpowiednim rozdziale oraz w formie 18 tabel i 9 rycin. W badanych grupach u wszystkich pacjentów z ITP obserwowano wzrost ekspresji dla genu VNN-1. Wykazano też, że ekspresja genu VNN-1 w chwili rozpoznania choroby jest istotnie wyższa u pacjentów z ITP niż w grupie kontrolnej. Największą ekspresję VNN-1 w chwili rozpoznania ITP odnotowano w grupie chorych, u których choroba trwała następnie do 3 miesięcy. Nie stwierdzono istotnych różnic poziomu ekspresji VNN-1 pomiędzy grupami chorych w zależności od czasu trwania choroby oraz płci. U 55% spośród 78 pacjentów stwierdzono przeciwciała ANA o mianie $>1:100$.

Najniższe przedziały kwartyłowe dla ANA w chwili rozpoznania ITP występują u dzieci leczonych do 3 miesięcy, a najwyższe przedziały kwartyłowe mają pacjenci leczeni powyżej 12 miesięcy. Pacjenci z przewlekłym ITP mieli istotnie częściej wysoko dodatnie miano przeciwciał przeciwnądrowych (39%) w chwili rozpoznania ITP w stosunku do pacjentów z postacią przetrwałą (9%) jak i nowo rozpoznaną (8%). U pacjentów z u pacjentów z wysoko dodatnimi przeciwciałami ANA stwierdzano najwyższą medianę ekspresji VNN-1 i odwrotnie, pacjenci z ujemnym mianem przeciwciał przeciwnądrowych wykazywali najniższą medianę ekspresji VNN-1. Mam natomiast wątpliwości dotyczące analizy wieku chorych. Autorka wykazała, że wiek chorych z postacią nowo rozpoznaną ITP różnił się w sposób istotny od wieku dzieci z grupy przewlekłej i grupy kontrolnej. Nie jest jednak jasne, czy brany był pod uwagę wiek w chwili zachorowania, czy w momencie określenia postaci choroby. Odpowiednie wyjaśnienie można znaleźć dopiero w rozdziale Dyskusja. Doktorantka wykazała ponadto, że pacjenci, u których choroba przechodzi w postać przewlekłą mają zwykle wyższą liczbę płytek w momencie rozpoznania oraz płytki są zazwyczaj większe.

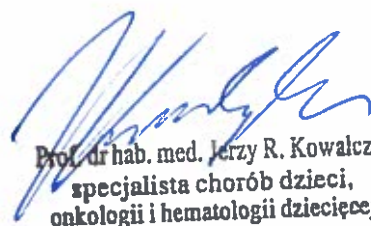
Rozdział poświęcony „Dyskusji” dowodzi umiejętności naukowego myślenia i zdolności do właściwego przedstawiania wyników własnych badań przez lek. med. Annę Duszę. Doktorantka potrafiła na podstawie własnych badań przeprowadzić dokładną analizę i dyskusję z wynikami uzyskanymi przez innych autorów i równocześnie przedstawiła krytyczną ocenę uzyskanych wyników zdając sobie sprawę z niedoskonałości związanych z analizą danych klinicznych. Konfrontacja wyników własnych badań i uzyskanych przez innych autorów wskazuje na rolę genu VNN-1 w patogenezie ITP jako biomarkera zaburzeń równowagi oksydo-redukcyjnej i czynnika inicjującego proces zapalny na poziomie komórkowym. Na podstawie analizy wyników własnych badań Doktorantka formułuje 2 końcowe wnioski, które dokumentują osiągnięcie postawionych celów.

Przedstawiona mi do oceny praca jest ważnym i oryginalnym wkładem Doktorantki do rozumienia biologii i patogeny pierwotnej małopłytkowości immunologicznej u dzieci. Podjęcie tego tematu przez lek. med. Annę Duszę było w pełni uzasadnione, a założone cele zostały osiągnięte. Sposób realizacji pracy świadczy o zdolności autorki do logicznej interpretacji obserwowanych zjawisk oraz jej umiejętności przedstawiania swoich badań w formie pracy odpowiadającej wymogom stawianym rozprawom doktorskim.

Oceniając pozytywnie pracę doktorską pt. : „**Ocena stopnia ekspresji genu VNN-1 (Vanin-1) u dzieci z pierwotną małopłytkowością immunologiczną**”

stwierdzam, że spełnia ona warunki określone w art.13 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.695 z późn. zm.), w związku z art.179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn.zm.). W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. med. Anny Duszy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, 31.08.2021r.



Prof. dr hab. med. Jerzy R. Kowalczyk
specjalista chorób dzieci,
onkologii i hematologii dziecięcej
9 4 7 8 6 0 7