

Prof. dr hab. med. Jerzy R. Kowalczyk

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek.med. Magdaleny Wołowiec pt. „Charakterystyka kliniczna dzieci z limfohistiocytozą hemofagocytarną”**

Limfohistiocytoza hemofagocytarna (HLH) jest stosunkowo rzadko rozpoznawanym stanem ciężkiego, zagrażającego życiu zapalenia, wywołanego nadmierną, przedłużoną i nieefektywną odpowiedzią immunologiczną. Poznanie przyczyn i patogenezы choroby spowodowało możliwość stosowania w ostatnich latach lepszej diagnostyki, w tym z zastosowaniem metod genetyki molekularnej. Dało również szansę na opracowanie bardziej skutecznych metod leczenia. Pomimo wiedzy, iż podłożem patofizjologicznym HLH jest nieefektywny przebieg reakcji zapalnej, nie ma dotychczas skutecznej i bezpiecznej metody wygaszania pobudzenia układu immunologicznego i ograniczenia nadmiernego zapalenia, a leczenie choroby jest obarczone ryzykiem licznych powikłań. Z tego względu śmiertelność w tej chorobie jest wciąż dość wysoka, a szanse na wyleczenie ma ok. 70% pacjentów. Ze względu na małą liczbę przypadków prezentowanych w publikowanych pracach istnieje konieczność gromadzenia jak największej liczby danych klinicznych, których analiza pozwoliłaby na zrozumienie patogenezы i opracowanie skutecznych i bezpiecznych metod leczenia HLH.

Dlatego uważam, że podjęcie próby analizы klinicznej dzieci leczonych w Polsce z powodu HLH jest w pełni uzasadnione i podjęcie tego tematu przez lek.med. Magdaleny Wołowiec zasługuje na najwyższe uznanie. Wyniki badań przeprowadzonych przez dr Wołowiec przedstawione zostały w przekazanej mi do oceny rozprawie doktorskiej.

Celem pracy było ustalenie podłoża rozwoju HLH u dzieci w Polsce, analiza przebiegu klinicznego oraz ocena skuteczności leczenia pacjentów w oparciu o retrospektywne dane kliniczne. Doktorantka uzyskała pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego nr KB/21/2010 dotyczącą przeprowadzenia przedstawionych badań. Badaną grupę stanowiło 63 pacjentów z HLH diagnozowanych i leczonych w 12 pediatrycznych ośrodkach hematologicznych w Polsce w okresie od sierpnia 2008 do kwietnia 2018 r.

Rozprawa doktorska lek. med. Magdaleny Wołowiec liczy ogółem 115 stron maszynopisu, zawiera 16 tabel i 16 rycin. Stanowią one czytelną ilustrację pracy i są wykonane bardzo starannie. Piśmiennictwo liczy 197 pozycji polskich i obcojęzycznych, w większości z ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo jest właściwie wykorzystane w tekście. Praca jest podzielona na następujące części : „Wstęp”, „Cel pracy”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Piśmiennictwo”. Ponadto w pracy zamieszczono wykaz użytych skrótów, spis tabel i rycin, aneks zawierający arkusz z bazy danych 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 charakterystykę limfhistiocytozy hemofagocytarnej oraz jej miejsce w aktualnej klasyfikacji grupy chorób zaliczanych do histiocytoz. Omówiła też rolę różnych komórek biorących udział w odpowiedzi immunologicznej oraz mechanizmy cytotoksyczności limfocytów. W kolejnej części Wstępu doktorantka przedstawiła aktualne poglądy na patogenezę HLH, a następnie omówiła postać pierwotną HLH o podłożu genetycznym i związanej z różnymi zespołami genetycznie uwarunkowanymi. W dalszej części tego rozdziału dr M. Wołowiec zostały dokładnie omówione wtórne postaci HLH, które rozwijają się w następstwie intensywnej aktywacji układu immunologicznego w przebiegu zakażeń, chorób nowotworowych, autoimmunizacyjnych lub metabolicznych. W kolejnych podrozdziałach doktorantka omówiła epidemiologię, obraz kliniczny oraz kryteria rozpoznania HLH, a także aktualne zasady leczenia. Cel pracy został przedstawiony przez lek. M. Wołowiec w sposób jasny, precyzyjny i nie nasuwający żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale pt. „Materiał i metodyka” doktorantka przedstawiła charakterystykę badanych pacjentów z HLH leczonych w polskich ośrodkach pediatrycznych, przyjęte kryteria rozpoznania oraz wykonywane badania laboratoryjne, w tym molekularne, konieczne do ustalenia rozpoznania choroby. Ponadto opisano ujednolicony sposób leczenia tych pacjentów oraz monitorowania efektów leczenia. Na końcu tego rozdziału przedstawiono zastosowane metody analizy statystycznej uzyskanych wyników badań.

Wyniki własnych badań doktorantka przedstawiła w formie 8 tabel i 12 rycin. Doktorantka dokonała analizy klinicznej 63 dzieci z rozpoznaniem HLH w różnych ośrodkach polskich. Dominującymi objawami klinicznymi oraz laboratoryjnymi stwierdzanymi w czasie rozpoznania były gorączka i powiększenie śledziona oraz pancytopenia i hiperferrytynemia, natomiast hemofagocytoza w preparatach szpiku lub węzłów chłonnych stwierdzana była

przy rozpoznaniu u 43 pacjentów. W badanej grupie zidentyfikowano 14 pacjentów (22,2%) z mutacjami typowymi dla HLH w genach *PRF1*, *UNC13D*, *SH2D1A* i *BIRC4*. U tych pacjentów rozpoznano pierwotną postać HLH, w tym u 10 pacjentów postać rodzinną (FHL) natomiast u pozostałych 49 pacjentów (77,8%) rozpoznana została wtórna postać HLH. U większości chorych z wtórną postacią podłożem rozwoju HLH była infekcja, głównie EBV. Dzieci były leczone protokołem HLH-2004 i remisję choroby uzyskano u 65% dzieci z pierwotną postacią oraz u prawie 90% dzieci z wtórną postacią choroby. Do transplantacji komórek macierzystych zostało zakwalifikowanych 28 pacjentów, w tym 14 pacjentów z pierwotną postacią HLH oraz 14 pacjentów z wtórną postacią HLH, którzy zostali zakwalifikowani do transplantacji na podstawie przebiegu klinicznego choroby. W chwili zakończenia obserwacji żyło 47 spośród 63 dzieci, a prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia 5-letniego w badanej grupie pacjentów wyniosło 62,4%. U pacjentów poddanych SCT prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wyniosło 67%, w tym w grupie FHL 66,7%. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia u pacjentów bez wskazań do SCT w grupie poinfekcyjnego HLH wyniosło 79,6%, w HLH związanej z procesem nowotworowym - 50%, a w zespole aktywacji makrofagów - 100%. Bardzo istotna jest obserwacja, że rodzinne postaci HLH występują u dzieci w wieku niemowlęcym, mają ciężki przebieg kliniczny, często z zajęciem OUN, brakiem remisji po leczeniu, wysokim ryzykiem zgonu przed przeszczepieniem macierzystych komórek krwiotwórczych.

Rozdział poświęcony „Dyskusji” dowodzi umiejętności naukowego myślenia i zdolności do właściwego przedstawiania wyników własnych badań przez lek. med. Magdalenę Wołowiec. 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. Na podstawie analizy wyników własnych badań doktorantka formułuje 10 końcowych wniosków, które dokumentują osiągnięcie postawionych celów.

Przedstawiona mi do oceny praca jest ważnym i oryginalnym wkładem doktorantki do rozumienia biologii i patogenezy HLH oraz wskazuje aspekty praktyczne dotyczące postępowania leczniczego w tej chorobie. Podjęcie tego tematu przez lek. med. Magdalenę Wołowiec 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. Pragnę przy tym podkreślić duże znaczenie praktyczne wykonanych przez doktorantkę analiz.

Oceniając pozytywnie pracę doktorską pt. : „Charakterystyka kliniczna dzieci z limfohistiocytozą hemofagocytarną” 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. Magdaleny Wołowiec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie biorąc pod uwagę wartość naukową i praktyczną uzyskanych wyników wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Lublin, 22.06.2020 r.

**KIEROWNIK KLINIKI**  
  
**Prof. dr hab. med. Jerzy Kowalczyk**

Klinika Hematologii, Onkologii  
i Transplantologii Dziecięcej  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
20-093 Lublin, ul. prof. Antoniego Gebali 6  
tel. 81-71-85-520, fax 81-747-72-20