



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Katedra i Klinika Onkologii, Hematologii Dziecięcej,
Transplantologii Klinicznej i Pediatrii

Wdch, 29.06.2023

Radca Dyscypliny Nauki Medyczne
Zespołu Pracowników Nauki
m. Podhorska-Okołów
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów

Warszawa, 19.06.2023 r.

Prof. dr hab. n. med. Iwona Malinowska
Katedra i Klinika Onkologii, Hematologii Dziecięcej,
Transplantologii Klinicznej i Pediatrii
Warszawski Uniwersytet Medyczny
iwona.malinowska@wum.edu.pl

| | |
|--|------------|
| Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE | |
| wpl. dnia | 28-06-2023 |
| L. dz. RN-BM/ | 147 |

Recenzja pracy doktorskiej lek. Izabelli Miśkiewicz-Migoń pt. „St2 i REG3α jako markery ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi u dzieci poddanych procedurze allogenicznego przeszczepienia komórek hematopoetycznych”

Alogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych (HCT) jest ważną metodą leczenia chorób nienowotworowych oraz nowotworowych. Celem alogenicznego przeszczepienia komórek krwiotwórczych w chorobach nienowotworowych jest całkowite lub częściowe zastąpienie niewydolnych komórek krwiotwórczych. W nowotworach hematologicznych wysokiego ryzyka potencjał leczniczy HCT zależy między innymi od efektu przeszczep przeciw białaczce (GVL). Choroba przeszczep przeciw gospodarzowi (GVHD) jest jednym z wielu powikłań po HCT, ale jest też główną przyczyną śmiertelności nie związanej z nawrotem (NRM) po tej procedurze.

Kliniczne czynniki ryzyka GVHD przed przeszczepieniem obejmują stopień zgodności HLA między dawcą a biorcą, wiek biorcy, typ dawcy i intensywność schematu kondycjonowania. Obecne stosowane strategie profilaktyki GVHD wynikają ze znajomości tych czynników ryzyka i sprowadzają się do wyboru optymalnego dawcy, kondycjonowania, materiału przeszczepowego oraz stosowania leków immunosupresyjnych takich jak cyklosporyna,

metotreksat, takrolimus, cellcept. Globulina antytymocytarna jest stosowana, gdy dawcą nie jest rodzeństwo identyczne w HLA.

Mimo stosowanej profilaktyki ostra GVHD (aGVHD) dotyka od 40% do 60% pacjentów i atakuje skórę, wątrobę oraz przewód pokarmowy. Mediana początku aGVHD wynosi około 1 miesiąc po przeszczepie.

Możliwość lepszej identyfikacji pacjentów zagrożonych ciężką aGVHD mogłaby prowadzić do wcześniejszych interwencji i leczenia choroby oraz do poprawy przeżycia pacjentów i lepszej jego jakości. Poszukiwanie wiarygodnych biomarkerów aGVHD jest przedmiotem badań naukowych od ponad 20 lat. Chociaż odkryto kilka markerów, niewiele z nich zostało zweryfikowanych w badaniach wielośrodkowych.

Ostatnio wykazano, że ocena stężenia TNFR1, ST2 i REG3 α na początku objawów klinicznych aGVHD pozwala przewidzieć NRM i odpowiedź na zastosowane leczenie.

W związku z powyższym, temat podjęty przez Doktorantkę dotyczący przydatności biomarkerów ST2, REG3 α i sCD163 w przewidywaniu wystąpienia GVHD w tym sterydoopornej aGVHD oraz poszukiwanie związków między stężeniem badanych białek a wskaźnikami przeżycia oraz wystąpieniem powikłań po alo-HCT oraz wznowy choroby podstawowej w populacji pacjentów pediatrycznych uważam za uzasadniony i niezwykle istotny dla klinicystów.

Rozprawa doktorska lek. Izabelli Miśkiewicz-Migoń liczy ogółem 83 strony, zawiera 19 tabel, 7 rycin. Piśmiennictwo liczy 86 pozycji autorów polskich i zagranicznych. Redakcyjny podział pracy na rozdziały i ich wzajemne proporcje nie budzą zastrzeżeń. Doktorantka przygotowała wykaz skrótów używanych w pracy co znacznie ułatwia czytanie i rozumienie tematyki.

Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu nr KB-192/2020 na przeprowadzenie badania, której kopię zamieszczono na końcu pracy.

We wstępie Doktorantka w sposób bardzo przejrzysty opisała rys historyczny HCT, wskazania do procedury alo-HCT, klasyfikację HCT ze względu na rodzaj dawcy i źródło komórek krwiotwórczych, metody kondycjonowania oraz powikłania po HCT. Doktorantka omówiła patofizjologię, epidemiologię, rodzaje, obraz kliniczny, czynniki ryzyka GVHD oraz skale oceny nasilenia GHVD. Opisała też metody profilaktyki i leczenia GVHD. Następnie Doktorantka omówiła biomarkery ST2, REG3 α oraz sCD163. Podkreśliła znaczenie i wagę problemu aGVHD, trafnie uzasadniła wybór markerów oraz potrzebę przeprowadzenia

badania. Cytowane są ważne prace dotyczące problemu, najnowsze z ostatnich 2-3 lat. Cele projektu badań są innowacyjne i jasno sformułowane.

W podrozdziale „Materiał i Metody” Doktorantka przedstawiła zastosowane metody, które odpowiadają celom badań. Opis metod jest wystarczająco szczegółowy, jasny i precyzyjny. Zawiera typ badań, okres obserwacji, charakterystykę badanych pacjentów, dane dotyczące alo-HCT przeprowadzonych w badanej grupie oraz status serologiczny CMV biorcy i dawcy.

Doktorantka przedstawiła liczebność grup oraz opis metod statystycznych. Badaną grupę stanowiło 70 pacjentów w wieku od 1 do 17,5 lat, poddanych procedurze alo-HCT w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2020-2022. W zakresie metody doboru grup Doktorantka nie uzupełniła informacji czy badaną grupę stanowili losowo wybrani pacjenci czy też wszyscy kolejni pacjenci przeszczepiani w okresie 2020-2022.

Badanie miało charakter prospektywny. Stężenia trzech białek oceniano metodą ELISA w osoczu pacjentów poddanych HCT w kilku punktach czasowych: +7 doba, +28 doba, oraz w przypadku wystąpienia aGVHD w dniu jej rozpoznania i w 7 dobie leczenia tego powikłania. GVHD wystąpiła u 40 pacjentów. Zwraca uwagę wysoka liczba brakujących pomiarów w poszczególnych punktach czasowych. Szczególnie wysoki odsetek brakujących próbek (23/40 57,5%) dotyczył pacjentów w dobie rozpoznania GVHD, oraz pacjentów w dobie +7 leczenia GVHD sterydami (15/40 37,5%).

Opisując badaną grupę, Doktorantka podała informację, że wszyscy pacjenci otrzymali G-CSF w celu przyspieszenia odnowy hematologicznej.

Stosowanie G-CSF po przeszczepieniu autologicznych komórek krwiotwórczych jest powszechną praktyką. Użycie G-CSF u wszystkich pacjentów po przeszczepieniach alogenicznych może budzić pewne kontrowersje w kontekście doniesień w piśmiennictwie, dotyczących zwiększonego odsetka przewlekłej GVHD i związanych z nią komplikacji u pacjentów otrzymujących G-CSF.

Doktoranta zawarła też informację, że zgodnie z zasadami w transplantologii oceniła status serologiczny CMV u wszystkich par dawca-biorca.

Najliczniejsza, licząca 37 % pacjentów, była grupa pacjentów R+/D+ a pozostałe 3 podgrupy (R+/D-, R-/D+, R-/D-) stanowiły odpowiednio 26 %, 20% i 17%.

Podawała też informację, że następnie oceniała replikację CMV oraz pp 65 u biorcy po HCT i za wiremię uznawała wykrycie ponad 0 kopii wirusa /ml. W praktyce klinicznej istotna kliniczne wiremię przyjmuje się wykrycie ≥ 1000 kopii wirusa /ml. Niestety w dalszej części pracy doktorskiej Doktorantka nie przedstawia tych wyników, a w dyskusji podsumowała, że w pracy nie potwierdzono zwiększonego ryzyka aGVHD w przypadku wystąpienia infekcji CMV. Podawała informację, że nie stwierdziła zależności między statusem serologicznym CMV biorcy i dawcy a wystąpieniem GVHD.

Doktorantka słusznie zawarła informacje, że w przypadkach wątpliwości w rozpoznaniu GVHD wykonywane były badania histopatologiczne. Brak jednak informacji, ile procedur wykonano i jaki materiał pobierano w ramach tej diagnostyki w badanej grupie pacjentów.

Zastosowane przez Doktorantkę metody analizy statystycznej nie budzą zastrzeżeń.

Rozdział „Wyniki” jest obszerny i podzielony na podrozdziały. Wyniki badań własnych Doktorantka przedstawiła opisowo oraz w formie 16 tabel. i 7 rycin. Zaletą tego rozdziału jest przedstawienie wyników w sposób przejrzysty i czytelny. Przedstawione są liczne analizy stężeń badanych markerów, zależności między stężeniami tych markerów a wystąpieniem GVHD, sterydoopornej GVHD i innych czynników wpływających na wystąpienie GVHD.

Podjęto próbę zamiany wartości liczbowych stężeń markerów na wartości jakościowe (low, medium, high) i próbę przeprowadzenia analizy regresji. Metody statystyczne dostosowano do niskich liczebności grup.

Z obowiązku recenzenta chciałabym zauważyć, że w tabeli 4 zawarta jest m. in. informacja o liczbie CD34⁺ jaką otrzymali pacjenci, która wahała się w granicach $1,27 \times 10^6$ do $22,41 \times 10^6$. Liczba przetoczonych komórek w przeliczeniu na kg nie została podana, a całkowita wydaje się nieprawidłowa. W praktyce klinicznej wymagana dawka HSC do jednego przeszczepu wynosi co najmniej 2×10^6 komórek CD34⁺/kg. Uważa się, że pozytywny wpływ infuzji $> 8-10 \times 10^6$ komórek/kg jest wysoce spekulacyjny.

Wartości stężeń badanych markerów zostały przedstawione w tabelach jako mediana a wizualizację wartości przedstawiono w formie wykresów „pudełko z wąsami”. W tabelach i rycinach nie podano liczby n przebadanych próbek. W tabelach przedstawiających wyniki zwraca uwagę zbyt duża liczba cyfr po przecinku w podawanych wartościach p i wartościach stężeń.

Doktorantka wykazała, że stężenie ST2 w dobie +28 po ało HCT jest istotnie wyższe u chorych z aGVHD, również u tych ze sterydooporną aGVHD. Nie stwierdzono, aby REG3 α i sCD163

miało związek z aGVHD. Nie stwierdzono, aby stężenie ST2, REG3 α i sCD163 wpływały na wskaźniki przeżycia i ryzyko wznowy. Stwierdziła, że stężenie ST2 +28 jest istotnie wyższe u osób z chorobą wenookluzyjną, oraz że stężenie REG3 α +28 jest wyższe u chorych z zespołem przesiąkania włósniczek.

W rozdziale „Wyniki” na stronie 46 Doktorantka podała liczbę 7 pacjentów ze sterydooporną aGVHD co jest niezgodne z liczbą takich pacjentów podaną na stronie 57. Należałoby również podać bezwzględną liczbę pacjentów, u których rozpoznano VOD.

Doktorantka jest świadoma niektórych ograniczeń w prowadzonych analizach z powodu liczebności grup i wielokrotnie wyraźnie to zaznacza.

W dyskusji Doktorantka opisała kluczowe wyniki w odniesieniu do celu badania, wskazała na ograniczenia jako potencjalne źródła błędów lub niedokładności. Doktorantka odniosła własne spostrzeżenia do wyników innych badaczy zajmujących się podobnymi zagadnieniami. Należy podkreślić umiejętność korzystania z piśmiennictwa naukowego oraz wiedzę teoretyczną dotyczącą badanych zagadnień. Doktorantka starała się nie tylko zinterpretować obserwacje własne, ale też wyjaśnić przyczyny zaobserwowanych zjawisk. Na podstawie analizy wyników własnych Doktorantka sformułowała 5 wniosków, które odnoszą się do założonych wcześniej celów. Dyskutując własne wyniki Doktorantka ponownie zwróciła uwagę na ograniczenia badań wynikające z małej liczby badanych pacjentów. Podkreśliła, że ocena przydatności badanych markerów u pacjentów poddanych alo-HCT wymaga przeprowadzenia kolejnych analiz.

Rozdział ten stanowi wyraz dużej wiedzy teoretycznej i umiejętności krytycznej analizy wyników w stosunku do prac innych autorów.

Rozprawę doktorską uzupełniają zwięzłe streszczenia w języku polskim i angielskim.

Praca napisana jest poprawną polszczyzną. Drobne błędy stylistyczne i edytorskie nie wpływają na obniżenie wartości pracy.

Podsumowując, Doktorantka wyczerpująco rozwinęła problem naukowy zawarty w temacie, uzyskała interesujące i praktyczne ważne wyniki i wykazała się dobrą znajomością problematyki prowadzonych badań. Pracę oceniam bardzo wysoko. Przeprowadzone przez lek. Izabellę Miśkiewicz-Migoń badania i uzyskane wnioski mają istotne znaczenie praktyczne i stanowią zachętę do prowadzenia dalszych badań dotyczących markerów GVHD na szerszej grupie pacjentów.

Rozprawa doktorska lek. Izabelli Miśkiewicz-Migoń spełnia warunki określone w art. Art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668).

W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. Izabelli Miśkiewicz-Migoń do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. n. med. Iwona Malinowska
specjalista chorób dzieci
specjalista onkologii i hematologii dziecięcej
specjalista transplantologii klinicznej
7478772