

Bydgoszcz, 27.01.2022

dr hab. n. med. Barbara Ruszkowska-Ciastek, prof. UMK
Katedra Patofizjologii
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Mikołaja Kopernika,
Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani lek. Magdaleny Olszewskiej-Szopa

***„Ocena gotowości zakrzepowej u chorych na szpiczaka plazmocytoowego i chłoniaki
nieziarnicze przed leczeniem i po uzyskaniu remisji”***

**dla Rady Dyscypliny Nauki Medyczne, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich
we Wrocławiu**



Szpiczak plazmocytowy należy do złośliwych nowotworów, który charakteryzuje się niekontrolowaną, proliferacją nieprawidłowych komórek plazmatycznych w szpiku kostnym. Choroba ta najczęściej dotyka pacjentów w wieku powyżej 65 r.ż.; mediana zachorowań 72 lata. Dodatkowo cechą charakterystyczną szpiczaka plazmocyтового są niejednorodne aberracje chromosomowe i liczne mutacje w szeregu genów, które sprawiają, że choroba jest bardzo trudna do leczenia. Natomiast chłoniaki nieziarnicze stanowią heterogenną grupę chorób limfoproliferacyjnych odpowiadających różnym stadiom zróżnicowania prawidłowych limfocytów B, rzadziej limfocytów T lub naturalnych komórek cytotoksycznych (NK) i częściej występują u osób dorosłych. W procesie onkogenezy odgrywają zasadniczą rolę nabyte mutacje somatyczne.

Patogeneza szpiczaka plazmocyтового, jak i chłoniaków nieziarniczych nie jest w pełni poznana. Istnieje wiele hipotez w tym zakresie. Zakładają one udział licznych czynników takich jak infekcje (wirusowe, bakteryjne), substancje chemiczne (pestycydy, herbicydy), promieniowanie jonizujące, urazy, czy stosowanie wcześniejszej chemioterapii (zwłaszcza w skojarzeniu z radioterapią). Ze względu na trudności w doborze właściwego schematu leczenia, zaawansowanego wieku pacjentów, którzy mają zasadniczo dodatkowe choroby współistniejące, jak również towarzyszące tym chorobom wysokie ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych stawia te dwie niejednorodne choroby jako ważny problem kliniczny. Dlatego też, wybór tematyki pracy Pani lek. Magdaleny Olszewskiej-Szopa uważam za istotny i aktualny z poznawczego i praktycznego punktu widzenia.

Rozprawa doktorska Pani lek. Magdaleny Olszewskiej-Szopa składa się ze 128 stron tekstu wraz ze spisem treści, wykazem użytych skrótów i podziękowaniami. Ma typowy układ dla rozprawy doktorskiej, wyodrębniono w niej rozdziały takie jak: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki i ich omówienie, dyskusja, podsumowanie, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo, spis rycin, wykresów, tabel oraz zgodę komisji bioetycznej. Część teoretyczna obejmuje 36 stron, a 53 strony stanowi część doświadczalna wraz z dyskusją wyników. Wstęp został podzielony na podrozdziały: hemostaza, definicja, elementy hemostazy, płytki krwi, budowa, funkcje, udział płytek krwi w hemostazie pierwotnej: adhezja, aktywacja, agregacja, rola płytek w hemostazie wtórnej, mikrocząsteczki płytkowe: znaczenie diagnostyczne i prognostyczne w guzach litych i nowotworach układu chłonnego, znaczenie mikrocząsteczek płytkowych w guzach litych, rola mikrocząsteczek płytkowych u chorych na szpiczaka plazmocyтового i chłoniaki nieziarnicze. W dalszej części wstępu Doktorantka scharakteryzowała szczegółowo układ krzepnięcia i fibrynolizy z uwzględnieniem roli śródbłonka naczyniowego w hemostazie,



a następnie opisała mikrocząsteczki śródbłonkowe ich znaczenie diagnostyczne i prognostyczne w guzach litych i nowotworach układu chłonnego, a także występowanie mikrocząsteczek śródbłonkowych w nowotworach litych oraz u chorych na szpiczaka plazmocytozowego i chłoniaki nieziarnicze. W kolejnych podrozdziałach części teoretycznej Doktorantka opisała szczegółową charakterystykę szpiczaka plazmocytozowego oraz chłoniaków niezianicznych w uwzględnieniu definicji, epidemiologii, etiopatogenezy, obrazu klinicznego, diagnostyki, rozpoznania, zasad leczenia, a także powikłania zakrzepowozatorowe w przebiegu oby analizowanych chorób. Ta część pracy jest napisana interesująco i wyczerpująco. Zagadnienia omawiane we wstępie są zgodne z aktualnym piśmiennictwem oraz najnowszymi wytycznymi towarzystw naukowych.

Pani lek. Magdalena Olszewska-Szopa słusznie i właściwie sformułowała cel badań, który stanowiła ocena gotowości zakrzepowej u chorych na szpiczaka plazmocytozowego i chłoniaki nieziarnicze na podstawie analizy aktywności komórek śródbłonka i płytek krwi w odniesieniu do obrazu naczyń żylnych w badaniu ultrasonograficznym. Dodatkowo Doktorantka postawiła sobie 9 szczegółowych pytań: (1) Jaka jest częstość występowania zmian zakrzepowych w naczyniach żylnych chorych na nowotwory hematologiczne ze świeżym rozpoznaniem i po zakończeniu planowej terapii? (2) Jaki jest wpływ chemioterapii na rozwój zakrzepicy u chorych na szpiczaka plazmocytozowego i chłoniaki nieziarnicze? (3) Jak stosowanie profilaktyki przeciwzakrzepowej wpływa na występowanie zakrzepicy u chorych na nowotwory limfoproliferacyjne? (4) Czy współistnienie innych chorób przewlekłych wpływa na występowanie zakrzepicy u chorych na szpiczaka plazmocytozowego i chłoniaki nieziarnicze? (5) Czy istnieje zależność pomiędzy odsetkiem mikrocząstek z dodatnim antygenem komórek śródbłonka (CD 133+, endothelial cell microparticles, EMPs), odsetkiem mikrocząstek z koekspresją CD133+/CD142+ przed rozpoczęciem leczenia i po jego zakończeniu, a występowaniem zakrzepicy? (6) Czy istnieje zależność pomiędzy odsetkiem mikrocząstek z dodatnim antygenem płytkowym (CD 61+, platelet microparticles, PMPs) i koekspresją CD61+/CD142+ przed rozpoczęciem leczenia i po zakończeniu planowej terapii, a występowaniem zakrzepicy? (7) Czy istnieje zależność pomiędzy klasycznymi parametrami układu krzepnięcia: stężenie fibrynogenu, INR (international normalised ratio; międzynarodowy współczynnik znormalizowany), czasem częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT), liczbą płytek (PLT) przed rozpoczęciem leczenia a występowaniem zakrzepicy? (8) Czy stopień zaawansowania szpiczaka plazmocytozowego i chłoniaków niezianicznych oraz wybrane parametry aktywności choroby

mają związek z ryzykiem wystąpienia zakrzepicy? (9) Czy istnieje związek pomiędzy występowaniem zakrzepicy a czasem przeżycia chorych na nowotwory limfoproliferacyjne?

W kolejnej części dysertacji Doktorantka przedstawiła metodologię badań wraz ze szczegółową charakterystyką grupy badanej oraz dokładnie określonymi kryteriami włączenia i wyłączenia z badania. Pacjenci byli leczeni w Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Grupę badaną stanowiło 76 chorych leczonych od stycznia 2015 roku do maja 2020 roku. W tym 45 chorych na świeżo rozpoznanego szpiczaka plazmocytoowego (MM), 26 kobiet i 19 mężczyzn, w wieku od 43 do 78 lat (Me = 64) oraz 31 chorych na świeżo rozpoznanego chłoniaka nieziarnicznego (NHL), 14 kobiet i 17 mężczyzn, w wieku od 22 do 85 lat (Me = 66). Grupę kontrolną stanowiło 12 zdrowych osób: 9 kobiet i 3 mężczyzn w wieku 29-66 lat (Me = 43). Proporcje poszczególnych grup są właściwe. Doktorantka w sposób wyczerpujący opisała kolejne etapy postępowania badawczego: czas pobierania materiału, rodzaj zastosowanego antykoagulantu, procedurę uzyskania osocza. Materiałem użytym w badaniu było osocze wersenianowe. Doktorantka prawidłowo przedstawiła opis procedury analitycznej i właściwie zastosowała metody statystyczne. Wartym podkreślenia jest fakt, że Doktorantka posłużyła się wieloma zaawansowanymi technikami statystycznymi w tym estymator Kaplana-Meiera, do określenia prawdopodobieństwa przeżycia całkowitego (OS, ang. overall survival), czy regresją logistyczną.

W kolejnym rozdziale Pani lek. Magdalena Olszewska-Szopa przedstawiła wyniki przeprowadzonych badań w sposób usystematyzowany i logiczny pod postacią 33 tabel, 6 wykresów oraz 2 rycin wraz z prawidłowo przedstawionymi opisami. Wyniki są przedstawione w sposób czytelny i niebudzący uwag. Następnie Doktorantka w sposób rzeczowy i krytyczny przeprowadził dyskusję uzyskanych wyników z dostępnymi danymi w piśmiennictwie, na aż 17 stronach maszynopisu z logicznym podziałem na podrozdziały to ułatwiło czytelnikowi zrozumienie analizowanych kwestii.

Na podstawie przeprowadzonych badań Pani lek. Magdalena Olszewska-Szopa sformułował 9 właściwie brzmiących wniosków/spostrzeżeń, które znajdują uzasadnienie w przeprowadzonej analizie kliniczno-analitycznej i są odpowiedzią na postawione cele: (1); Istnieje duża rozbieżność pomiędzy występowaniem zakrzepicy objawowej a stwierdzanej ultrasonograficznie u chorych na szpiczaka i chłoniaki ze świeżym rozpoznaniem. U 29% chorych na MM i NHL występuje zakrzepica bezobjawowa, wykazana w badaniu USG Doppler żył kończyn dolnych. Bezobjawowe zmiany zakrzepowe częściej stwierdza się u chorych na szpiczaka (35,5%) w porównaniu z chorymi na chłoniaka (19,3%).

Zakrzepica objawowa wystąpiła u 2,5 % chorych na MM; (2) U chorych planowanych do leczenia z zastosowaniem leków nasilających krzepnięcie, należy rozważyć badanie USG żył kończyn dolnych, w celu wykluczenia zakrzepicy, mimo braku jej objawów; (3) Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w występowaniu bezobjawowej zakrzepicy zależnie od stosowanej terapii oraz występowania chorób przewlekłych. Mogło mieć to związek z faktem stosowania w tych grupach profilaktyki przeciwkrzepliwej w większym odsetku niż u pozostałych chorych; (4) Zagrożenie wystąpieniem zakrzepicy jest większe w szpiczaku z łańcuchem lekkim kappa w porównaniu do szpiczaka z łańcuchem lambda; (5) Stopień zaawansowania choroby oceniany wg skali ISS (dla MM) i IPI (dla NHL), wiek, płeć nie mają wpływu na rozwój zakrzepicy bezobjawowej; (6) Parametry układu krzepnięcia w zakrzepicy bezobjawowej mogą być prawidłowe; (7) Odsetki mikrocząstek z ekspresją antygenów płytkowych (CD 61+) i antygenów śródbłonkowych (CD131+) nie różnią się między chorymi na szpiczaka i chłoniaki, oraz nie wykazują różnicy zależnie od obecności zmian zakrzepowych stwierdzanych ultrasonograficznie; (8) Odsetki mikrocząstek z ekspresją antygenów płytkowych (CD 61+) i antygenów śródbłonkowych (CD131+) z koekspresją TF (CD142+) są większe w grupie badanej porównaniu ze zdrowymi, korelują najczęściej z TF co może być dowodem laboratoryjnym pogotowia zakrzepowego; (9) Występowanie zakrzepicy bezobjawowej nie ma wpływu na całkowity czas przeżycia w MM i NHL.

Praca zawiera 55 tabel i 5 rycin oraz 6 wykresów, Doktorantka powołuje się na 173 pozycje bibliografii, 159 (92 %) z nich to anglojęzyczne manuskrypty, opublikowane w latach 1984-2021. W tym pojedyncze prace z roku 1865, 1947, 1964, 1967, 1972 (n=5). Natomiast 94 źródła (54 %) to prace opublikowane w ostatnich 10 latach. Naj tej podstawie uważam, że dobór piśmiennictwa jest właściwy i nie budzi żadnych zastrzeżeń.

Wniosek końcowy z przeprowadzonej analizy: uważam, że przedstawione w dysertacji wyniki powinny zostać opublikowane w renomowanych czasopismach. Doktorantka wykazała się znakomitą biegłością podjętego tematu, a przedstawione wnioski mają istotną wartość kliniczną.

Z obowiązku recenzenta mam kilka uwag/sugestii do pracy:

1) Sugerowałabym aby wykresy były przedstawione w większym formacie, byłyby zdecydowanie bardziej czytelne.

2) Muszę zwrócić uwagę Doktorantce na niestaranne przedstawienie bibliografii w sposób niejednorodny z brakami roku wydania i numerów stron.

3) Ponadto przygotowując opracowanie wyników do publikacji sugeruję dopisanie ograniczeń oraz mocnych stron badania.



4) Podczas przygotowywania manuskryptu do publikacji sugerowałabym aby wszystkie skróty użyte w tabelach zostały wyjaśnione pod tabelą w postaci legendy.

5) Z recenzenckiego obowiązku muszę wspomnieć, iż Pani lek. Magdalena Olszewska-Szopa w trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej nie ustrzegła się w tekście kilku błędów stylistycznych, edytorskich oraz literowych.

Zamieszczone powyżej uwagi/sugestie nie wpływają na moją bardzo wysoka ocenę przedstawionej do oceny pracy Pani lek. Magdaleny Olszewskiej-Szopa.

Po wnikliwej analizie przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej Pani lek. Magdaleny Olszewskiej-Szopa zatytułowanej: *„Ocena gotowości zakrzepowej u chorych na szpiczaka plazmocytoowego i chłoniaki nieziarnicze przed leczeniem i po uzyskaniu remisji”* stwierdzam, że rozprawa doktorska 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 późn. zm.), dlatego też mam zaszczyt przedstawić wniosek o dopuszczenie kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, pragnę zwrócić się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycznej z wnioskiem o wyróżnienie pracy, podkreślając jej wartość naukową a przede wszystkim ze względu na bardzo mocno wyodrębniony aspekt praktyczny. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę pozwalają na lepsze zrozumienie tak ważnego dla praktyki klinicznej zagadnienia.

UNIwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Wydział Farmaceutyczny
Katedra Patofizjologii
ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85-067 Bydgoszcz
tel. 52 585 35 91
e-mail: kizpatofiz@cm.umk.pl

Z wyrazami szacunku,

Dr hab. Barbara Ruszkowska-Ciastek, prof. UMK

Katedra Patofizjologii

