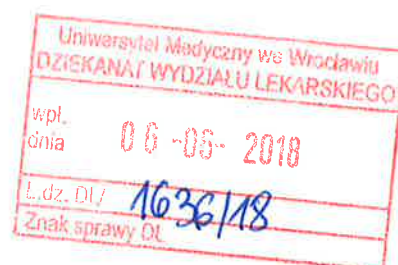


Lublin dnia 01 czerwca 2018



Recenzja

Rozprawy doktorskiej lek. Alicji Markuszewskiej- Kuczyńskiej

Pt. "Badania nad znaczeniem diagnostyki morfologicznej szpiku kostnego w rozpoznawaniu choroby Gauchera u dorosłych"

Wykonanej w Hematology Center Karolinska, Karolinska University Hospital Huddinge w Sztokholmie , Szwecja , pod kierunkiem

Prof. Dr hab. nauk medycznych Macieja Machaczki (Promotor) oraz
Dr n.med. Moniki Klimkowskiej (Promotor Pomocniczy)

Choroba Gauchera jest najczęściej występującą chorobą spichrzeniową. Spowodowana jest uwarunkowanym genetycznie niedoborem aktywności enzymu lizosomalnego glukocerebrozydazy . Podstawą rozpoznania choroby są badania enzymatyczne przede wszystkim ocena aktywności w/w enzymu glukocerebrozydazy. Ch. Gauchera występuje panetnicznie z częstością np. 1 na 40 000 mieszkańców Europy ale w populacji Żydów Aszkenazyjskich znacznie częściej 1:500 do 1:1000 mieszkańców. Wśród osób o pochodzeniu nie-Aszkenazyjskim należy do chorób rzadkich , dotyczących mniej niż jednej osoby na 2000 mieszkańców co w dużym stopniu przyczynia się do opóźnienia właściwego rozpoznania. Dominującymi objawami klinicznymi są znużenie, splenomegalia i objawy będące następstwem zmian w morfologii krwi takie jak: małopłytkowość, leukopenia czy anemia. Z powodu w/w objawów chorzy zgłaszają się przede wszystkim do hematologa. Ponieważ występowanie nowotworów

hematologicznych w populacji nie-Aszkenazyjskiej jest znacznie częstsze niż Choroby Gauchera hematolodzy w diagnostyce różnicowej u chorego z w/w wymienionymi objawami biorą przede wszystkim pod uwagę proliferacje a więc : białaczki, chłoniaki, szpiczaka plazmocytoowego. Podstawowym badaniem diagnostycznym w tych przypadkach jest TB (trepanobiopsja) szpiku kostnego. Wykrycie obecności komórek piankowatych w szpiku kieruje diagnostykę na właściwe tory: poszukiwania choroby spichrzeniowej. Tak więc chociaż TB szpiku nie jest podstawą rozpoznania choroby Gauchera to jednak wykonanie tego badania czasami przyczynia się do rozpoczęcia właściwego postępowania diagnostycznego. Jest to szczególnie ważne, gdyż dysponujemy obecnie refundowanym przez NFZ leczeniem tej choroby: hormonalną terapią zastępczą. Natomiast nierozpoznana w porę choroba Gauchera prowadzi do zmian wielonarządowych i skrócenia życia chorym.

Biorąc pod uwagę te fakty należy uznać, że temat badań wybrany przez doktorantkę jest jak najbardziej słuszny i może przyczynić się do dalszego poszerzenia wiedzy na temat samej choroby Gauchera oraz znaczenia oceny morfologicznej szpiku kostnego w jej diagnostyce.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska lek. med. Alicji Markuszeńskiej-Kuczyńskiej „*Badania nad znaczeniem diagnostyki morfologicznej szpiku kostnego w rozpoznawaniu choroby Gauchera u dorosłych*” oparta jest na spójnym tematycznie cyklu 4 prac :dwóch prac oryginalnych , jednego opisu przypadku i jednej pracy poglądowej dotyczącej objawów klinicznych, leczenia oraz trudności w rozpoznawaniu choroby Gauchera. Dwie prace oryginalne (No 2 i No 3) zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych w języku angielskim i posiadają sumarycznie 3,181 IF i 45 pkt MNiSW. Praca poglądowa(No1) i opis przypadku (No

4) zostały opublikowane w czasopiśmie polskim i posiadają 28 pkt MNiSW łącznie. W 3 pracach Doktorantka jest pierwszym autorem , w jednej drugim ale jej wkład w wykonanie opublikowanego materiału został oceniony jako równoważny. Udział Doktorantki w przygotowywaniu wszystkich publikacji został potwierdzony stosownymi oświadczeniami współautorów zamieszczonymi na końcu pracy doktorskiej.

Struktura i podział treści pracy nie budzą zastrzeżeń. Praca zawiera : wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską ,streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, kopie publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej w oryginalnej wersji językowej, podsumowanie i wnioski oraz załączniki: oświadczenia współautorów , opinie Komisji Bioetycznej w języku szwedzkim, wykaz pozostałych publikacji naukowych i doniesień zjazdowych Doktorantki.

We wstępie autorka przedstawia najważniejsze informacje dotyczące choroby Gauchera : rys historyczny, patogenezę, epidemiologię, obraz kliniczny, rozpoznanie i leczenie. Ponadto zwraca uwagę na znaczenie badania szpiku w diagnostyce choroby a także wymienia przyczyny trudności w jej rozpoznawaniu.

W następnej części autorka formułuje szczegółowe cele swojej pracy , a więc zakłada zbadanie:

1. Czy zastosowanie biopsji aspiracyjnej do oceny cytologicznej szpiku kostnego oraz trepanobiopsji do jego oceny histologicznej wykazuje istotne różnice w wykrywalności komórek Gauchera w szpiku kostnym ?
2. Czy i jakiego rodzaju polimorfizm komórek Gauchera występuje w preparatach cytologicznych szpiku kostnego ?
3. Jaki odsetek komórek Gauchera wykazuje nietypową cytomorfologię w szpiku kostnym ?

4. Czy diagnostyka morfologiczna szpiku kostnego przeprowadzona w celu wyjaśnienia przyczyny długotrwałej pancytopenii po chemio- i radioterapii z powodu nowotworu może nasunąć podejrzenie GD1?

W następnej części przedstawiono materiał i metody zastosowane w pracy doktorskiej. Materiał kliniczny stanowiło 6 dorosłych pacjentów ze sporadyczną chorobą Gauchera typ 1 (17% szwedzkiej populacji pacjentów z GD1), którzy pozostawali pod opieką Szpitala Uniwersyteckiego Karolinska. Chorzy ci zgłosili się do szpitala w celu ustalenia przyczyny małopłytkowości i splenomegalii i zostali początkowo zbadani przy użyciu rutynowej biopsji aspiracyjnej i trepanobiopsji szpiku kostnego. Następnie doktorantka zaprezentowała metody badawcze i statystyczne wykorzystane w ocenianej pracy.

W pracy poglądowej (No 1) opublikowanej w Acta Haematologica Polonica w roku 2015 przedstawiono ponownie nieco bardziej szczegółowo rys historyczny najważniejszych odkryć w chorobie Gauchera, jej objawy kliniczne, przyczyny trudności w jej rozpoznawaniu oraz sposoby leczenia. Duża część tych informacji została zawarta we wstępie pracy.

Drugą pracą stanowi praca oryginalna „*Clinical utility of different bone marrow examination methods in the diagnosis of adults sporadic Gaucher disease type 1.*” Praca została opublikowana w Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej w roku 2014 [IF 2,121, MNiSW 30pkt]. W pracy porównano użyteczność kliniczną dwóch rodzajów badań szpiku kostnego: biopsji aspiracyjnej (ASP) i trepanobiopsji (TB) w rozpoznawaniu typu 1 choroby Gauchera. Stwierdzono, że w preparatach cytologicznych szpiku kostnego uzyskanych metodą biopsji aspiracyjnej można było znaleźć jedynie 4 komórki Gauchera na 1000 analizowanych komórek jednojądrzastych

(zakres 1-18) , a średni odsetek komórek Gauchera wyniósł 0,4%(0,1-1,8%). Natomiast całkowity odsetek komórek Gauchera w preparatach histologicznych wahał się od 22% do 36% (mediana 28%). Wartość mediany odsetka komórek Gauchera była wyraźnie większa przy zastosowaniu do badania szpiku kostnego trepanobiopsji w porównaniu do biopsji aspiracyjnej ($P=0,028$). Badaniom poddano 6 chorych ze sporadyczną postacią ch. Gauchera z populacji nie-Aszkenazyjskiej, którzy byli diagnozowani z powodu małopłytkowości i splenomegalii. Ponieważ w populacji nie-Aszkenazyjskiej choroby nowotworowe występują częściej niż choroba Gauchera a w/w objawy sugerują nowotwór hematologiczny (białaczkę, chłoniaki) w rutynowej diagnostyce wykonywane jest badanie szpiku na ogół z zastosowaniem obu metod, biopsji aspiracyjnej i trepanobiosji. Znalezienie w preparacie szpiku komórek piankowatych co jest bardziej prawdopodobne w badaniu histologicznym, kieruje diagnostykę w stronę chorób spichrzeniowych. Badanie szpiku nie jest podstawą rozpoznania choroby Gauchera, wymagane jest w tym celu wykonanie badań enzymatycznych. W przypadku populacji Aszkenazyjskiej ,w której choroba Gauchera występuje częściej niż choroby nowotworowe w diagnostyce różnicowej małopłytkowości i splenomegalii badania enzymatyczne wykonanoby najprawdopodobniej na samym początku. Odpowiednia interpretacja badania szpiku w diagnostyce choroby Gauchera ma znaczenie w populacji nie-Aszkenazyjskiej gdzie choroba Gauchera ma charakter sporadyczny.

Następna praca oryginalna (No3) zatytułowana: „*Atypical cytomorphology of Gaucher cells is frequently seen in bone marrow smears from untreated patients with Gaucher disease type 1*” została opublikowana w Folia Histochemica et Cytobiologica (IF 1,06; 15 pkt MNI SW).W pracy przedstawiono

różne atypowe postacie komórek Gauchera oraz zbadano częstość ich występowania w preparatach cytologicznych szpiku kostnego u nieleczonych dorosłych ze sporadyczną postacią choroby Gauchera. Typowo komórki Gauchera barwią się lekko zasadochłannie, mają stosunkowo duże rozmiary (20-100 μ m, średnicy), ekscentrycznie położone jądro komórkowe oraz piankowatą i pofałdowaną cytoplazmę .W pracy dokonano oceny cytomorfologicznej wszystkich komórek Gauchera i makrofagów liczonych na 2 szkiełkach z rozmazami cytologicznymi szpiku kostnego każdego chorego (w sumie 6 chorych).Komórki Gauchera o nietypowym wyglądzie zaszeregowano do następujących kategorii: (1)posiadających nietypową piankowatą cytoplazmę(zajmującą >10% cytoplazmy), (2) posiadających centralnie położone jądro komórkowe(najmniejsza odległość pomiędzy błoną jądrową a błoną cytoplazmatyczną >2/3 promienia komórki),(3) o wielkości komórki >100 μ m,(4)o morfologii komórek wielojądrzastych , (5) o morfologii syncytium komórkowego (wielojądrowe komórki Gauchera większe niż 100 μ m),(6)posiadających niezwykle ,duże wypustki komórkowe(dłuższe niż najdłuższa średnica jądra komórkowego i węższe od największej średnicy typowej komórki Gauchera) oraz (7) wykazujących wyraźną hemofagocytozę. W pracy wykazano, iż spośród wszystkich zidentyfikowanych w preparatach komórek Gauchera średnio 29% (22-40%) spośród nich wykazuje atypową morfologię. Ponieważ w diagnostyce sporadycznej postaci choroby Gauchera ocena szpiku jest dosyć często wykonywana, znajomość charakterystyki nietypowych postaci komórek Gauchera, pozwoli ich nie przeoczyć i skierować diagnostykę w kierunku rozpoznania choroby spichrzeniowej.

Ostania praca pt. "Długotrwała pancytopenia po chemioterapii jak objaw demaskujący chorobę Gauchera u pacjentki z rakiem płuca" została opublikowana w Acta Haematologica Polonica (MNi SW 14). W pracy poruszono istotny problem przedłużających się zmian w morfologii krwi będących następstwem chemioterapii raka płuca o chorej z nierozpoznaną sporadyczną chorobą Gauchera. Pomimo, że u chorej od wielu lat obserwowano łagodną małopłytkowość nie była ona poddana diagnostyce hematologicznej. Mielogram i trepanobiopsję szpiku wykonano dopiero w celu poszukiwania przyczyny przedłużającej się pancytopenii. Wówczas w badaniu szpiku wykryto obecność komórek piankowatych. Po wykonaniu badań enzymatycznych i genetycznych rozpoznano chorobę Gauchera typ 1. W pracy zwrócono uwagę na dwa istotne problemy dotyczące choroby Gauchera: po pierwsze jest ona zdecydowanie za rzadko rozpoznawana. Jednym z jej objawów jest małopłytkowość ale na ogół łagodna, i to powoduje, że lekarze nie odczuwają potrzeby wykonywania pogłębionej diagnostyki. Po drugie u chorych z chorobą Gauchera zaobserwowano częstsze niż w populacji ogólnej występowanie nowotworów. Najczęstszym nowotworem jest szpiczak plazmocytowy, ale spotykane są również inne jak w przedstawionej pracy. Wykazano również w tym opisie przypadku skuteczność enzymatycznego leczenia substytucyjnego, które dzięki poprawie parametrów morfologii krwi pozwoliło na kontynuowanie chemioterapii.

Na podstawie przeprowadzonych badań autorka wyciągnęła kilka wniosków przedstawionych w postaci opisowych podsumowań każdej z prac. Z każdego podsumowania sugerowałabym pozostawić jeden najistotniejszy wniosek:

Wniosek 1. (Praca No2) TB i ocena histologiczna jest o wiele czulsza , a co za ty idzie pewniejsza w wykrywaniu komórek Gauchera w szpiku kostnym w GD1.

Wniosek 2.(Praca No 3). Znajomość możliwych nietypowych form komórek Gauchera powinna przyczynić się do szybszego i właściwego rozpoznania choroby Gauchera a co za tym idzie zmniejszenia ryzyka postawienia błędnego rozpoznania.

Wniosek 3.(Praca No4).Opisany przypadek zwraca uwagę na zwiększoną mielotoksyczność chemio- i radioterapii z powodu nowotworu u chorych z nierozpoznaną chorobą Gauchera oraz podkreśla kluczowe znaczenie diagnostyki morfologicznej szpiku kostnego w rozpoznawaniu sporadycznej GD1 u dorosłych.

W podsumowaniu chciałabym podkreślić ,że przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską oceniam pozytywnie pod względem formalnym i merytorycznym. W ocenianej pracy autorka wykazała się umiejętnością stawiania problemów badawczych i właściwego doboru zestawu metod badawczych oraz ich pełnego opanowania praktycznego. Uzyskała i opublikowała starannie wartościowe i oryginalne wyniki badań o istotnym znaczeniu poznawczym i rozwojowym dla hematologii.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek .med. Alicji Markuszewskiej-Kuczyńskiej pt. „*Badania nad znaczeniem diagnostyki morfologicznej szpiku kostnego w rozpoznawaniu choroby Gauchera u dorosłych*”spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz.595, z późn.zm.).

**W związku z powyższym stawiam Radzie Wydziału
Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego i.m. Piastów Śląskich
we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie kandydatki do dalszych
etapów przewodu doktorskiego.**



Dr hab. n. med. Bożena Sokołowska
KATEDRA I KLINIKA HEMATOONKOLOGII
I TRANSPLANTACJI SZPIKU
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Dr hab. n.med. Bożena Sokołowska

Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie