



WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY

KLINIKA CHOROÓB ZAKAŻNYCH WIEKU DZIECIĘCEGO

Warszawa, 18.11.2024

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Lek. Grażyny Bugaj

Z Kliniki Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej Wydziału Lekarskiego

Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych

i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

pt. „Ocena zależności pomiędzy stężeniem wybranych cytokin i wykładnikami stanu zapalnego u dzieci z drgawkami gorączkowymi i padaczką z napadami uogólnionymi”

Drgawki gorączkowe i padaczka należą do najczęstszych chorób neurologicznych u dzieci i zajmują szczególne miejsce w pediatrii. Wystąpienie u dziecka pierwszego napadu drgawkowego budzi zwykle ogromny niepokój i obawy rodziców co do dalszego rozwoju dziecka. Drgawki i stan padaczkowy jako stany nagłe stanowią bezpośrednie zagrożenie życia dziecka, z tego względu wymagają pilnej interwencji, diagnostyki i odpowiedniego leczenia. Możliwość ewolucji drgawek gorączkowych do padaczki, częściowo wspólne dane w wywiadzie medycznym i podobne czynniki etiologiczne wskazują na związek pomiędzy tymi chorobami. Dokładna znajomość wieloczynnikowej etiopatogenezy obu jednostek chorobowych jest warunkiem prawidłowej opieki medycznej nad dziećmi z tymi problemami zdrowotnymi. Jednym z istotnych czynników wpływających za wystąpienie drgawek gorączkowych, napadów padaczkowych i padaczki jest reakcja zapalna, której badanie w tej



WYDZIAŁ
LEKARSKI
WUM

ul. Wolska 37
01-201 Warszawa

tel.: 22 335 52 92
faks: 22 335 53 79
chorobyzakaznedzieci@wum.edu.pl

grupie pacjentów stanowi istotny wkład w rozwój wiedzy o najczęstszych stanach napadowych u dzieci.

W swojej rozprawie doktorskiej lek. Grażyna Bugaj podjęła się nowatorskiego zadania, którego celem była analiza reakcji zapalnej i jej wpływu na przebieg drgawek gorączkowych i padaczki z napadami uogólnionymi u dzieci. W związku z tym **temat pracy lek. Grażyny Bugaj oceniam jako niezwykle aktualny i mający potencjalnie ważne implikacje kliniczne dla tej grupy pacjentów.**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest oparta na **cyklu 3 prac oryginalnych** opublikowanych w latach 2023-2024. Wszystkie prace zostały napisane w języku angielskim (jedna w angielskim i polskim) i opublikowane w recenzowanych, międzynarodowych czasopismach. Łączna punktacja Impact Factor (IF) zadeklarowana przez Doktorantkę wynosi 0,3 natomiast punktacja MEiN cyklu prac to **200 punktów**. Podkreślić należy, że Doktorantka jest **pierwszym autorem** wszystkich trzech publikacji, a dołączone do rozprawy oświadczenia Współautorów wskazują na znaczący indywidualny wkład Doktorantki w opracowanie koncepcji badań, rekrutację pacjentów, zbieranie, analizę i interpretację danych oraz przygotowanie manuskryptów do druku.

Tekst właściwy rozprawy liczy 120 stron, na które składają się: spis treści, wykaz aktywności naukowej, opis przedmiotu badań wraz z komentarzem i wykazem publikacji stanowiących podstawę postępowania w sprawie o nadanie stopnia naukowego doktora, podsumowanie wyników, piśmiennictwo, streszczenie pracy w języku polskim i analogiczne streszczenie w języku angielskim. Tekst rozprawy został opatrzony załącznikami, w skład których wchodzi kopie wszystkich publikacji, oświadczenia współautorów oraz opinie komisji bioetycznej. Rozprawa została przygotowana w sposób staranny, co umożliwiło przejrzyste przedstawienie badanego zagadnienia oraz danych zebranych przez Doktorantkę.

Tytuł pracy właściwie odzwierciedla treść rozprawy. We **wprowadzeniu** Doktorantka w obszerny i wyczerpujący sposób opisała zagadnienia związane z tematyką drgawek gorączkowych i napadów padaczkowych ze szczególnym uwzględnieniem ich klasyfikacji i możliwych czynników etiologicznych. Ten fragment rozprawy świadczy o dobrej znajomości tematu przez Doktorantkę, która prezentuje szeroką ogólną wiedzę teoretyczną, trafnie identyfikuje luki w aktualnym stanie wiedzy i dostrzega problemy kliniczne tej grupy pacjentów, uzasadniając podjęcie tematu badawczego.

Założenia i cele pracy zostały sformułowane jednoznacznie. Za główny cel badawczy Doktorantka przyjęła ocenę reakcji zapalnej i jej wpływu na przebieg drgawek

gorączkowych i padaczki z napadami uogólnionymi u dzieci w oparciu o ocenę zależności pomiędzy stężeniem wybranych cytokin i wykładnikami stanu zapalnego.

Ponadto wyodrębnione zostały następujące cele szczegółowe:

1. analiza wskaźników stanu zapalnego; zależności pomiędzy stężeniami cytokin prozapalnych i wskaźników stanu zapalnego oraz typem drgawek;
2. analiza podstawowych parametrów immunologicznych – stężeń immunoglobulin IgA, IgG i IgM, wybranych parametrów hematologicznych – WBC, bezwzględnej liczby neutrofilii i limfocytów, zależności pomiędzy wymienionymi parametrami a typem drgawek gorączkowych, sekwencją drgawek gorączkowych, napadami padaczkowymi oraz zakażeniem HHV-6;
3. analiza profili cytokin prozapalnych – IL-1 β , IL-6, CXCL8 i TNF- α w poszczególnych typach drgawek gorączkowych oraz w zależności od rodzaju infekcji;
4. określenie najczęstszej etiologii infekcji, zależności pomiędzy rodzajem infekcji i typem drgawek, ocena postaci klinicznych infekcji przebiegających ze stanami napadowymi, najczęstszego typu drgawek gorączkowych oraz rodzaju napadów padaczkowych pod względem częstotliwości występowania u badanych dzieci;
5. analiza patogenów ze szczególnym uwzględnieniem patogenów z rodziny *Herpesviridae* – HHV-6, HCMV, EBV;
6. analiza cech pierwotnego zakażenia HHV-6 u dzieci w stanach napadowych.

Założone cele badawcze zostały zrealizowane w ramach projektu związanego z **prospektywną analizą** danych klinicznych pacjentów pediatrycznych hospitalizowanych z powodu drgawek gorączkowych oraz napadów padaczkowych w Klinice Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Grupa badana obejmowała 64 dzieci po napadzie drgawek gorączkowych oraz 11 dzieci z padaczką uogólnioną, po napadzie padaczkowym w przebiegu ostrej infekcji. Grupę kontrolną stanowiły dzieci z opóźnionym rozwojem, przyjęte do szpitala do planowej diagnostyki. Wyniki przeprowadzonych analiz zostały opisane w trzech publikacjach oryginalnych.

W **pierwszej pracy** (*Bugaj G, Mania A, Frydrychowicz M, Górna A, Lubarski K, Mazur-Melewska K, Figlerowicz M. Analysis of selected pro-inflammatory cytokines: IL-1 β , IL-6, CXCL-8, and TNF- α in children with seizure disorders during acute infection. Is there*

a specific pro-inflammatory cytokine profile in these patients? Aktualn Neurol. 2023;23(1):1-13) wykazano istotnie niższe immunoglobulin IgG u dzieci z wszystkimi typami drgawek gorączkowych w porównaniu z grupą dzieci po napadzie padaczkowym. Stwierdzono istotnie niższe stężenie IgG w pierwszorazowych napadach gorączkowych prostych w porównaniu z grupą kontrolną. U dzieci z napadami uogólnionymi istotnie niższe stężenie IgG odnotowano tylko w pierwotnym zakażeniu HHV-6 w porównaniu z dziećmi niezakażonymi HHV-6. Nie wykazano istotnej różnicy stężeń immunoglobulin u dzieci z drgawkami gorączkowymi w przebiegu pierwotnego zakażenia HHV-6. Najniższą bezwzględną liczbę limfocytów wykazano u dzieci z pierwszorazowymi drgawkami gorączkowymi złożonymi oraz u dzieci z napadami padaczkowymi. Nie stwierdzono istotnej różnicy w zakresie bezwzględnej liczby limfocytów u dzieci z pierwotnym zakażeniem HHV-6 po napadach drgawek gorączkowych i padaczkowych. Wykazano, że monitorowanie podstawowych parametrów immunologicznych i hematologicznych jest przydatne w diagnostyce stanów napadowych u dzieci. Opisane testy przesiewowe umożliwiają wstępną ocenę ilościową odpowiedzi humoralnej, komórkowej i upośledzenia fagocytów.

Druga praca (Bugaj G, Mania A, Górna A, Lubarski K, Mazur-Melewska K, Figlerowicz M. *Assessment of basic immunological parameters in children with seizure disorders during acute infection. Pediatr Med Rodz. 2023;19(1):207-215*) miała na celu analizę stężeń wybranych cytokin prozapalnych u dzieci ze stanami napadowymi w przebiegu ostrej infekcji, opisanie profili cytokin w poszczególnych typach drgawek, rodzajach infekcji z uwzględnieniem zakażenia HHV-6, analizę rutynowo oznaczanych wskaźników stanu zapalnego oraz określenie zależności pomiędzy stężeniem cytokin i wskaźnikami stanu zapalnego. Stężenia cytokin prozapalnych u dzieci z objawami infekcji, niezależnie od etiologii, były istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Profile tych cytokin u dzieci w grupach drgawek gorączkowych i w porównaniu z profilami cytokin u dzieci w grupie napadów padaczkowych różniły się. Najbardziej zbliżone profile cytokin odnotowano u dzieci z drgawkami gorączkowymi prostymi i napadami padaczkowymi w przebiegu infekcji wirusowych i o nieustalonej etiologii.

W trzeciej pracy (Bugaj G, Mania A, Lubarski K, Tomaszewski M, Mazur-Melewska K, Małecki P, Figlerowicz M. *Human herpesvirus 6 as the underestimated causative agent of seizure disorders in febrile children. Aktualn Neurol. 2024;24(1):20-34*) Doktorantka podjęła się próby oceny stanów napadowych u dzieci z gorączką, jak również analizy patogenów ze szczególnym uwzględnieniem patogenów z rodziny *Herpesviridae* (HHV-6, HCMV, EBV)

oraz oceny przebiegu pierwotnego zakażenia HHV-6 i oceny odpowiedzi zapalnej u badanych dzieci. Pierwotne zakażenie HHV-6 potwierdzono u 33% dzieci w grupie badanej. Najczęściej zakażenie HHV-6 występowało u dzieci z drgawkami gorączkowymi prostymi plus. U dzieci z pierwotnym zakażeniem HHV-6 przebiegającym bez wysypki wykazano istotną różnicę między liczbą dzieci z pierwszorazowymi epizodami drgawek gorączkowych a liczbą dzieci z kolejnymi napadami. Pomiędzy grupą dzieci z drgawkami gorączkowymi i pozytywnym wynikiem HHV-6 a grupą dzieci z negatywnym wynikiem HHV-6 nie wykazano istotnych różnic w odniesieniu do wieku oraz zależności między płcią dzieci. Nie stwierdzono istotnych zależności i różnic w odniesieniu do wskaźników stanu zapalnego z wyjątkiem liczby leukocytów, która była niższa u dzieci z pierwotnym zakażeniem HHV-6.

W **Podsumowaniu** Doktorantka przedstawiła **wnioski** płynące z przeprowadzonych badań. Zostały one zestawione w sposób przejrzysty i usystematyzowane w punktach, odnoszących się do sformułowanych wcześniej celów rozprawy doktorskiej. W większości przypadków nasilenie odpowiedzi zapalnej u dzieci w przebiegu infekcji przebiegającej z drgawkami było niskie, choć w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzano wyższe wartości wykładników zapalnych u dzieci z drgawkami gorączkowymi. **Za najistotniejsze osiągnięcie Doktorantki** uważam wskazanie różnic w poziomach immunoglobulin oraz profilach cytokin prozapalnych w zależności od typu drgawek. Szczególne znaczenie mają **kliniczne implikacje przeprowadzonych badań**, w tym wykazanie, że najczęstszym czynnikiem sprawczym drgawek u gorączkujących dzieci jest HHV-6, a co za tym idzie, w diagnostyce różnicowej u dzieci z drgawkami gorączkowymi powinno się uwzględnić pierwotne zakażenia HHV-6 pomimo braku typowych objawów rumienia nagłego. Te dane mają charakter unikalny i w znaczący sposób poszerzają naszą wiedzę w zakresie oceny dzieci z drgawkami w przebiegu infekcji. Tym samym, rozprawa Doktorska Lek. Grażyny Bugaj stanowi oryginalne rozwiązanie ważkiego problemu naukowego, a otrzymane wyniki powinny przełożyć się na codzienną praktykę kliniczną.

Piśmiennictwo, w liczbie 112 pozycji, jest aktualne i odnosi się bezpośrednio do adresowanej w rozprawie problematyki, stanowi rozszerzenie piśmiennictwa cytowanego w poszczególnych publikacjach składających się na cykl prac.

Podkreślić należy, że opisane wyniki prac składających się na niniejszą rozprawę zostały wcześniej zrecenzowane i opublikowane w renomowanych czasopismach. Mogę z

pełnym przekonaniem potwierdzić, że opisane badania zostały przeprowadzone rzetelnie i poprawnie, a metodyka została dobrana prawidłowo.

Z obowiązku recenzenta pozwolę sobie wskazać kilka **uwag i komentarzy**, które nasunęły mi się podczas lektury rozprawy:

1. We wstępie (str. 23) Doktorantka wskazała, że „Szacuje się, że u 11% dzieci mogą wystąpić FS jako niepożądany odczyn poszczepienny w ciągu 2 tygodni po szczepieniu.” – ten odsetek wydaje się niesłychanie duży i wymaga komentarza (nie wskazano źródła piśmiennictwa dla tych danych).
2. We wszystkich trzech pracach opisano tę samą grupę badaną (64 dzieci z FS i 11 z GE). Z czego natomiast wynikają różnice w liczebności grupy kontrolnej (46 dzieci w pracach 1 i 2; 36 pacjentów w pracy 3)?
3. Poza wnioskami wynikającymi bezpośrednio z publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej, wartościowe byłoby wspólne podsumowanie uzyskanych wniosków, w szczególności w jaki sposób otrzymane wyniki dotyczące różnic w profilach wykładników zapalnych oraz prozapalnych cytokin mogłyby wpłynąć na codzienną praktykę kliniczną.
4. Niezwykle pomocny jest wykaz stosowanych skrótów na początku rozprawy, niemniej ich nagromadzenie w częściach opisowych pracy nieco utrudnia jej odbiór i sprawne czytanie.

Pragnę podkreślić, że przedstawione powyżej uwagi nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej ocenianej rozprawy doktorskiej. Traktuję je raczej jako sugestie dla Doktorantki przy planowaniu dalszych badań niż jako krytykę przedstawionej pracy.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi oryginalne dokonanie Doktorantki i świadczy o jej szerokiej ogólnej wiedzy teoretycznej, samodzielności i dojrzałości naukowej oraz o bardzo dobrym opanowaniu warsztatu pracy naukowej, wymaganym od kandydata na stopień doktora nauk medycznych. Chciałabym podkreślić, że wyniki uzyskanych badań poza oryginalnym aspektem naukowym, mają istotne implikacje dla codziennej praktyki klinicznej. Problem drgawek gorączkowych u dzieci jest wciąż niewystarczająco poznany i stanowi wyzwanie dla lekarzy pediatrów.

Rozprawa doktorska w formie cyklu publikacji to dowód na przygotowanie Doktorantki do dalszej samodzielnej pracy naukowej. Opublikowanie wyników prac eksperymentalnych wymagało od Doktorantki przejścia przez kolejne etapy związane z pracą naukową, począwszy od opracowania projektu badań, aż po przygotowanie otrzymanych wyników pracy do publikacji, jak również stanowi dowód na umiejętność współpracy z innymi badaczami.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018, poz. 1668)”. Mam zaszczyt i przyjemność zwrócić się do z wnioskiem do Wysokiej Kapituły Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lek. Grażyny Bugaj do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Prof. dr hab. n. med. i o zdr. Maria Pokorska-Śpiewak
Klinika Chorób Zakaźnych Wieku Dziecięcego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego*