

COLLEGIUM MEDICUM
Instytut Nauk Medycznych
Katedra Pediatrii
65-046 Zielona Góra, ul. Zyty 28
tel. +48 797977240; 797977241

Prof. dr hab. med. Marcin Zaniew
Kierownik Katedry Pediatrii Collegium Medicum
Uniwersytet Zielonogórski
Email: m.zaniew@cm.uz.zgora.pl

Zielona Góra, 26.11.2024 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Lek. Grażyny Bugaj pt.: „Ocena zależności pomiędzy stężeniem wybranych cytokin i wykładnikami stanu zapalnego u dzieci z drgawkami gorączkowymi i padaczką z napadami uogólnionymi” z Kliniki Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przygotowanej pod kierunkiem Pani prof. dr hab. med. Anny Mani.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska składa się ze wstępu (przedstawionego na 20 stronach), założeń pracy, komentarzy do 3 prac tworzących cykl oraz wniosków. Całość uzupełnia piśmiennictwo obejmujące 112 pozycje, streszczenie w języku polskim i angielskim, informacje o charakterze udziału współautorów oraz uchwała Komisji Bioetycznej. Oświadczenia współautorów pracy wskazują na wiodący udział Doktorantki w przygotowaniu w/w prac.

Rozprawa doktorska lek. Grażyny Bugaj opiera się na **cyklu 3 prac o łącznej liczbie 200 pkt. MNiSW**. Wszystkie 3 prace są pracami oryginalnymi. We wszystkich pracach doktorantka jest pierwszym autorem. Badanie, które było podstawą przygotowania w/w prac miało charakter prospektywny i zostało przeprowadzone w okresie od 19 stycznia 2017 roku do 5 grudnia 2020 roku w Klinice Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej w Poznaniu. W badaniu uczestniczyło 64 dzieci z drgawkami gorączkowymi (FS) i 11 z wcześniej rozpoznaną uogólnioną padaczką (GE). Grupę kontrolną (GrK) stanowiło 46 dzieci z opóźnionym rozwojem psychomotorycznym,



umysłowym, całościowymi zaburzeniami rozwoju i deficytami neurologicznymi przyjętych do planowej diagnostyki.

Wykaz prac składający się na rozprawę doktorską:

1/ 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. [Analiza stężenia wybranych cytokin prozapalnych – IL-1 β , IL-6, CXCL-8, TNF- α u dzieci ze stanami napadowymi w przebiegu ostrej infekcji. Czy u badanych pacjentów występuje specyficzny profil cytokin prozapalnych?] (IF: 0.1; punktacja MEiN: 40)

2/ 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. [Ocena podstawowych parametrów immunologicznych u dzieci ze stanami napadowymi w przebiegu ostrej infekcji] (IF: 0.1; punktacja MEiN: 140)

3/ 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. [Ludzki herpeswirus typu 6 – niedoceniony czynnik sprawczy stanów napadowych u gorączkujących dzieci] (IF: 0.1; punktacja MEiN: 20).

W swojej pracy Doktorantka postawiła sobie ambitny cel ocenić obecność/nasilenie 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. Szczegółowe cele pracy obejmowały:

1/ analizę wskaźników stanu zapalnego – WBC, CRP, PCT, ESR; zależności pomiędzy stężeniami cytokin prozapalnych i wskaźników stanu zapalnego oraz typem drgawek.

2/ analizę 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/ analizę 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, ocenę postaci klinicznych infekcji przebiegających ze stanami napadowymi, najczęstszego typu drgawek gorączkowych oraz rodzaju napadów padaczkowych pod względem częstotliwości występowania u badanych dzieci.

5/ analizę patogenów ze szczególnym uwzględnieniem patogenów z rodziny Herpesviridae – HHV-6, HCMV, EBV.

6/ analizę cech pierwotnego zakażenia HHV-6 u dzieci w stanach napadowych.

Pierwsza z włączonych do cyklu prac pt.: **„Ocena podstawowych parametrów immunologicznych u dzieci ze stanami napadowymi w przebiegu ostrej infekcji”** obejmowała ocenę stężeń IgA, IgG i IgM w surowicy krwi u dzieci po napadzie FS i z GE, po napadzie padaczkowym, w przebiegu ostrej infekcji. Ocenie poddano także parametry hematologiczne i wskaźniki stanu zapalnego. Wykazano m.in. istotnie niższe stężenie IgA u dzieci z SFS oraz stężenia IgG u dzieci z wszystkimi typami FS w porównaniu z grupą dzieci GE. Stwierdzono istotnie niższe stężenie IgG w pierwszorazowych napadach prostych (SFS) w porównaniu z GrK. U dzieci z GE istotnie niższe stężenie IgG odnotowano tylko w pierwotnym zakażeniu HHV-6 w porównaniu z dziećmi niezakażonymi HHV-6. Nie wykazano istotnej różnicy stężeń Ig u dzieci z FS w przebiegu pierwotnego zakażenia HHV-6. Najniższą bezwzględną liczbę limfocytów wykazano u dzieci z pierwszorazowymi złożonymi drgawkami gorączkowymi (CFS) oraz u dzieci z GE, WBC i bezwzględną liczbę neutrofilii u dzieci z SFS i pierwotnym zakażeniem HHV-6 w porównaniu z dziećmi niezakażonymi HHV-6. Podsumowując, wykazano, że monitorowanie podstawowych parametrów immunologicznych i hematologicznych może być przydatne w diagnostyce stanów napadowych u dzieci.

W pracy 2 pt.: **„Analiza stężenia wybranych cytokin prozapalnych – IL-1 β , IL-6, CXCL-8, TNF- α u dzieci ze stanami napadowymi w przebiegu ostrej infekcji. Czy u badanych pacjentów występuje specyficzny profil cytokin prozapalnych?”** celem Autorów była analiza stężenia 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, analiza rutynowo oznaczanych wskaźników stanu zapalnego oraz określenie zależności pomiędzy stężeniem cytokin i wskaźnikami stanu



zapalnego. W pracy zbadano stężenia cytokin prozapalnych – IL-1 β , IL-6, CXCL-8 i TNF- α w surowicy krwi oraz standardowe parametry zapalne. Wykazano istotnie wyższe mediany stężeń IL-1 β , IL-6, CXCL-8 i TNF- α u dzieci z SFS i SFS+ w porównaniu z GrK; najwyższe stężenia IL-6 i CXCL-8 zaobserwowano w grupie SFS+. Nasilenie reakcji zapalnej mierzone wskaźnikami reakcji zapalnej u dzieci z SFS i SFS+ odpowiadało istotnie wyższym stężeniom wszystkich badanych cytokin. W pracy przeanalizowano również stężenia cytokin w zależności od rodzaju infekcji, tj. infekcją wirusową, bakteryjną i o nieustalonej etiologii. Stężenia w/w cytokin u dzieci z objawami infekcji, niezależnie od etiologii, były istotnie wyższe niż w GrK. Wykazano różnice w profilach wybranych cytokin w poszczególnych typach drgawek gorączkowych i u dzieci po napadzie padaczkowym w przebiegu ostrej infekcji.

Z kolei celem pracy 3 pt.: „Ludzki herpeswirus typu 6 – niedoceniony czynnik sprawczy stanów napadowych u gorączkujących dzieci” była ocena stanów napadowych u dzieci z gorączką, analiza patogenów ze szczególnym uwzględnieniem patogenów z rodziny Herpesviridae – HHV-6, HCMV, EBV; analiza cech pierwotnego zakażenia HHV-6 oraz ocena odpowiedzi zapalnej u badanych dzieci. Wykazano, że u dzieci ze stanami napadowymi najczęściej występują infekcje dróg oddechowych o etiologii wirusowej. Drgawki gorączkowe i napady padaczkowe w przebiegu infekcji mają w większości przypadków łagodny przebieg. Najczęstszym czynnikiem sprawczym drgawek u gorączkujących dzieci jest HHV-6. Pierwotne zakażenie HHV-6 przebiegało przeważnie bez wysypki (rumienia nagłego).

Wnioski wynikające z w/w prac przedstawiono w 6 punktach:

- 1/ Nasilenie odpowiedzi zapalnej u dzieci w infekcji przebiegającej z drgawkami było niskie. Istotnie wyższe wartości ESR u dzieci z SFS i CFS oraz stężenia CRP i PCT stwierdza się we wszystkich typach FS w porównaniu z GrK.
- 2/ Wykazano istotnie wyższe stężenia cytokin prozapalnych u dzieci z objawami infekcji niezależnie od etiologii w porównaniu z GrK.
- 3/ Stężenie IgA u dzieci z SFS oraz stężenie IgG u dzieci z wszystkimi typami FS jest niższe od stwierdzanego w grupie dzieci po napadzie padaczkowym, a w odniesieniu do dzieci po pierwszorazowych SFS również z GrK. Niższe stężenie IgG w pierwotnym zakażeniu HHV-6 wykazano u dzieci z padaczką uogólnioną.
- 4/ Profile wybranych cytokin prozapalnych różniły się w poszczególnych typach drgawek gorączkowych i u dzieci z padaczką uogólnioną, po napadzie padaczkowym w przebiegu ostrej

infekcji. U dzieci z SFS i SFS+ stwierdzono wyższe stężenia IL-1 β , IL-6, CXCL8 i TNF- α ; z CFS IL-6 i CXCL8; z GE wyższe stężenia IL-6, CXCL8 i TNF- α .

5/ U dzieci ze stanami napadowymi najczęściej występują infekcje dróg oddechowych o etiologii wirusowej. FS i napady padaczkowe w przebiegu infekcji mają w większości przypadków łagodny przebieg. Najczęściej występują proste FS i pojedyncze epizody napadów padaczkowych.

6/ Najczęstszym czynnikiem sprawczym drgawek u gorączkujących dzieci jest HHV-6, z tego względu u dzieci z FS w diagnostyce etiologii infekcji powinno się uwzględnić pierwotne zakażenia HHV-6 pomimo braku typowych objawów rumienia nagłego i niezależnie od sekwencji drgawek gorączkowych.

Podsumowując, cele pracy zostały jasno sformułowane. Metodyka badań, dobór grupy badanej i kontrolnej oraz analizowanych parametrów zostały dobrane właściwie. Analizy statystyczne przeprowadzono dobierając odpowiednie testy. Wyniki zostały przedstawione w sposób czytelny. Doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną dotyczącą prezentowanego zagadnienia oraz umiejętnością argumentacji przy omawianiu wyników swoich badań, właściwie dobierając piśmiennictwo. Piśmiennictwo aktualne oraz liczba pozycji znaczna. Doktorantka przedstawiła 6 wniosków, które odpowiadają postawionym celom. Wnioski wynikają z uzyskanych wyników i zostały sporządzone w sposób prawidłowy, tj. bez zbędnej nadinterpretacji.

Moje drobne uwagi dotyczą:

1/ Kolejność omawianych prac nie jest tożsama z kolejnością wykazanych prac (zamiana kolejności prac 1 i 2).

2/ Szkoda, że Doktorantka nie pokusiła się o bardziej szczegółową analizę parametrów laboratoryjnych zarówno parametrów zapalnych i immunologicznych, co mogłoby skutkować ciekawymi obserwacjami. Dlatego zachęcałbym do kontynuacji projektu, który obejmowałby większą grupę chorych, także z innych ośrodków o różnym stopniu referencyjności (uniknięcie tzw. selection bias), aby móc zastosować nowoczesne narzędzia statystyczne do opracowania modelu i narzędzia predykcyjnego.

3/ Poczynione obserwacje odnośnie czynnika sprawczego drgawek u gorączkujących dzieci (najczęściej czynnik - HHV-6) mogą wynikać z jednoośrodkowego charakteru pracy. Nie



można wykluczyć, że analiza pacjentów na bazie wysokospecjalistycznego Oddziału/Kliniki mogła mieć wpływ na selekcję pacjentów.

4/ Pomimo relatywnie dużej grupy badanej, liczba pacjentów analizowanych w poszczególnych podgrupach wydaje się zbyt mała.

5/ Wyjaśnienia niektórych skrótów pojawiają się później niż ich pierwsze zastosowanie.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska oparta jest na spójnym tematycznie cyklu prac. Należy podkreślić, że praca miała charakter prospektywny, została ona starannie zaplanowana i zrealizowana zgodnie z założeniami. Przeprowadzone badanie/prace, mimo że jednośrodkowe, należy uznać za ciekawe o potencjalnie dużej wartości klinicznej. Jednakże, aby uzyskane wyniki miały zastosowanie w codziennej pracy wymagane jest potwierdzenie uzyskanych wyników, czy też poszerzenie badań uwzględniając bardziej liczną grupę badaną. Na podstawie przedłożonej mi dysertacji jednoznacznie stwierdzam, że Doktorantka posiada umiejętności samodzielnego planowania i realizacji badań naukowych. Widać, że Doktorantka ma dużą wiedzę praktyczną i wieloletnie doświadczenie kliniczne. Drobne uwagi nie umniejszają pracy, służą jedynie wskazaniu ew. rozwiązań na wypadek kontynuowania badań.

Wobec powyższego stwierdzam, że przedstawiona mi dysertacja spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018, poz. 1668)”. W związku z tym proszę Wysoką Radę Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu o przyjęcie rozprawy autorstwa lek. Grażyny Bugaj i dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


KIEROWNIK
Klinicznego Oddziału Pediatrii z pododdziałami:
Endokrynologii, Diabetologii i Nefrologii Dziecięcej
prof. dr hab. n. med. Marcin Zaniew