

**Zakład Hematoonkologii
Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Lublin 20-090
ul. Chodzki 1
tel./fax. +48 81448 6630
Kierownik:
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos**



**Experimental Hematooncology
Department
Medical University
of Lublin
20-090 Lublin, POLAND
1 Chodzki St.
tel./fax. +48 81448 6630
Head:
Prof. Krzysztof Giannopoulos**

Lublin, dn. 31.08.2024 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej

Lek. Anny Hoppe

„Analiza wybranych czynników ryzyka zakrzepicy u pacjentów z nowotworami limfoproliferacyjnymi”

Promotor: dr hab. n. med. Joanna Rupa-Matysek

Epizody zakrzepowo-zatorowe należą do jednych z najważniejszych i najczęstszych powikłań występujących w przebiegu naturalnym chorób nowotworowych oraz jako zdarzenia związane z ich leczeniem. Choroba nowotworowa istotnie zwiększa ryzyko wystąpienia zakrzepicy w porównaniu z populacją ogólną, a nowotworowe choroby hematologiczne należą do grupy związanej z najwyższym ryzykiem takich powikłań. Do szczególnie istotnych czynników ryzyka zakrzepicy w przebiegu nowotworów hematologicznych należą powszechnie stosowane leki i procedury, takie jak leki immunomodulujące i antyangiogenne, cisplatyna, antracykliny czy implantacja cewników naczyniowych. W tym kontekście bardzo istotne jest poznanie mechanizmów i czynników ryzyka wymienionych powikłań u chorych z nowotworami hematologicznymi. Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska podejmuje powyższą tematykę.

Publikacje wchodzące w skład cyklu przedstawionego w recenzowanej rozprawie doktorskiej zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach. Łączny Impact Factor wyniósł 7.748, a całkowita liczba punktów MNiSW 340. We wszystkich artykułach

Doktorantka jest pierwszym autorem, co wskazuje na Jej duże zaangażowanie w powstanie i publikację prac. Badania opisane przez doktorantkę były finansowane w ramach Małego Grantu Badawczego pt. „Analiza wybranych czynników ryzyka zakrzepicy u pacjentów z nowotworami limfoproliferacyjnymi” przyznawanego przez Komisję ds. oceny grantów z dotacji statutowej dla młodych naukowców – doktorantów Szkoły Doktorskiej i Studiów Doktoranckich Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (SDUM-GB43/03/21).

Oceniana rozprawa doktorska ma układ klasyczny. Praca liczy 77 stron wydruku komputerowego. Jej najważniejsze merytorycznie części to Wstęp uzasadniający połączenie wskazanych publikacji w jeden cykl oraz komentujący osiągnięcia naukowe kandydata na tle dotychczasowego stanu wiedzy (10 stron), Założenia i cele rozprawy (1 strona), Omówienie prac wchodzących w skład rozprawy (3 strony), Wnioski (1 strona), Streszczenia w języku polskim i angielskim (4 strony) oraz cykl reprintów 3 publikacji naukowych (28 stron). Ponadto praca zawiera wykaz skrótów użytych w tekście (2 strony), bibliografię (5 stron) oraz załączniki w postaci oświadczeń współautorów publikacji (12 stron) i zgody udzielonej przez Komisję Bioetyczną (1 strona).

W rozdziale **Wstęp (strony 10-19)** został przedstawiony aktualny stan wiedzy na temat zagadnień związanych z tematem rozprawy. W tej części omówiono podstawowe informacje dotyczące występowania powikłań zakrzepowo-zatorowych u pacjentów z nowotworami, używanych skal ryzyka zakrzepicy i możliwości postępowania profilaktycznego. Doktorantka szerzej omówiła występowanie powikłań zakrzepowych w grupie pacjentów z nowotworami limfoproliferacyjnymi, współistniejące w ich przypadku zaburzeń krzepnięcia, czynniki ryzyka oraz mechanizmy wywołujące zakrzepicę indukowaną nowotworem, w tym będącą przedmiotem rozprawy rolę zewnątrzkomórkowych pułapek neutrofilowych.

Rozdział **Założenia i cele rozprawy (strony 20)** zawiera opis zamierzeń badań, których wyniki zostały przedstawione w cyklu publikacji. Wszystkie opisane cele zostały zrealizowane w opublikowanych pracach, co dowodzi umiejętności Doktoranta w zakresie planowania i realizacji badań.

W rozdziałach **Omówienie prac (strony 21-23)** oraz **Wnioski z pracy doktorskiej (strona 24)** przedstawiono w skrócie wyniki trzech publikacji wchodzących w skład recenzowanej rozprawy doktorskiej, poddano je ocenie oraz przedstawiono wpływające z nich wnioski. Dodatkowo na **stronach 34-62** załączono reprinty publikacji. Każda z nich

spełnia wymogi dla recenzowanych publikacji naukowych. Pierwsza praca ma charakter poglądowy i przedstawia aktualny stan wiedzy na temat będący przedmiotem przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej. Kolejne dwie prace o charakterze oryginalnym mają jasno określony cel badawczy oraz dokładnie opisane metody zastosowanych badań i analizy statystycznej. Obie z tych prac przynoszą wnioski będące odpowiedzią na postawione cele badawcze i mające potencjalnie praktyczną wartość kliniczną. Pomimo ograniczonej objętości przedstawiony komentarz ma wartość merytoryczną, przedstawia ograniczenia omawianych badań, zawiera odniesienia do ich potencjalnego praktycznego znaczenia oraz wskazuje na dalsze kierunki badań w tym zakresie.

Streszczenia w języku polskim (strony 30-31) i języku angielskim (strony 32-33) pozwalają zapoznać się z założeniami pracy, uzyskanymi wynikami i wynikającymi z nich wnioskami. Są napisane w odpowiedni sposób pozwalając na uzyskanie podstawowego wglądu w najważniejsze tezy rozprawy. Streszczenie w języku angielskim zostało napisane stylistycznie poprawnie.

Praca poglądowa pt. **„Clinical challenge of managing patients with multiple myeloma and acquired hemophilia A with risk of both thrombosis and bleeding: a narrative review”** ukazała się w piśmie *Acta Haematologica Polonica* w 2022 roku (punktacja MNiSW 100). Przedstawiono w niej aktualne poglądy na występowanie nabytej hemofilii A (acquired hemophilia A, AHA) oraz współistnienie powikłań zakrzepowych i krwotocznych u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym. Omówiono szczegółowo mechanizm powstawania AHA uwzględniając możliwości spełniania roli inhibitora czynnika VIII przez białko monoklonalne. Opisano także dostępne we wcześniejszej literaturze przypadki współwystępowania AHA i MM. Ważnym aspektem praktycznym publikacji jest omówienie możliwości terapii AHA, w tym leczenia krwawień w przebiegu tego zaburzenia oraz postępowania mającego na celu eliminację inhibitora czynnika krzepnięcia. Przedstawiono dostępne leki hamujące krwawienie uwzględniając związane z nimi ryzyko zakrzepowe oraz dokładnie omówiono leki dostępne w leczeniu immunosupresyjnym AHA, ograniczenia w eradykacji inhibitora w przypadku współistnienia szpiczaka plazmocytowego i znaczenie leczenia choroby podstawowej. Doktorantka zwróciła także uwagę na bardzo istotny z klinicznego punktu widzenia problem dalszej profilaktyki zakrzepowej u chorych z MM po uzyskaniu remisji nabytej hemofilii A.

Pierwsza z prac oryginalnych wchodzących w skład recenzowanej rozprawy pt. **„Risk factors for catheter-related thrombosis in multiple myeloma patients undergoing**

autologous stem cell transplantation” została opublikowana w piśmie *Medicina* w 2021 roku (IF 2.948, punktacja MNiSW 40). Przeanalizowano w niej czynniki wpływające na wystąpienie zakrzepicy odcewnikowej u chorych ze szpiczakiem plazmocytowym, którzy potrzymani wysokodawkową chemioterapię wspomaganą przeszczepieniem autologicznych komórek krwiotwórczych. Badanie miało charakter retrospektywny i jego celem była identyfikacja czynników ryzyka powstawania objawowej zakrzepicy odcewnikowej w trakcie procedury ASCT. Grupę badaną stanowiło 276 chorych poddawanych ASCT w latach 2009-2019, u których przeanalizowano czynniki ryzyka zależne od pacjenta, choroby, sposobu terapii oraz dostępu naczyniowego. Objawową zakrzepicę odcewnikową stwierdzono u 2,5% chorych. W analizie jednoczynnikowej stwierdzono zwiększone ryzyko zakrzepicy u pacjentów z zakażeniem odcewnikowym, wcześniejszym epizodem zakrzepowym i powikłaniami ze strony przewodu pokarmowego w trakcie procedury ASCT; w analizie wieloczynnikowej stwierdzono wzrost ryzyka zakrzepicy u chorych z powikłaniami nieinfekcyjnymi. W interpretacji autorów publikacji uzyskane wyniki badania wskazywały na relatywnie niskie ryzyko objawowej zakrzepicy odcewnikowej u chorych ze szpiczakiem plazmocytowym poddawanych ASCT, a do najważniejszych czynników ryzyka należało wcześniejsze wystąpienie zakrzepicy, zakażenia centralnej linii naczyniowej oraz powikłania ze strony przewodu pokarmowego, zwłaszcza odwodnienie w ich przebiegu. Autorzy wskazują także na ograniczenia przedstawionej analizy, którymi były mała wielkość grupy badanej, niewielka liczba obserwowanych epizodów zakrzepowych oraz jej retrospektywny charakter. Wyciągnięte wnioski uwzględniają powyższe ograniczenia.

Trzecia z publikacji wchodzących w skład recenzowanej rozprawy pt. „**The impact of neutrophil extracellular trap formation on thromboembolic events and prognosis in patients with newly diagnosed lymphoproliferative disorders**” jest pracą oryginalną i została opublikowana w piśmie *Polish Archives of Internal Medicine* w 2024 roku (IF 4.8, punktacja MNiSW 200). Jest to badanie prospektywne, którego celem była analiza występowania zakrzepicy indukowanej nowotworem u chorych z nowo rozpoznany nowotworem limfoproliferacyjnym z uwzględnieniem znaczenia procesu NETozy dla jej powstawania. Grupę badaną stanowiło 65 pacjentów z dotychczas nieleczonym nowotworem limfoproliferacyjnym, w tym 30 przypadków z chłoniakiem Hodgkina lub chłoniakiem nie-Hodgkinowskim oraz 35 przypadków ze szpiczakiem plazmocytowym, u których rozpoczęto leczenie systemowe w latach 2019-2021. Wyniki porównano z grupą kontrolną, którą stanowiło 55 zdrowych osób w wieku 19-63 lat. W grupie badanej stwierdzono 11 epizodów zakrzepicy żyłnej u 9 chorych, najczęściej w postaci zakrzepicy żył głębokich kończyn

dolnych, a większość powyższych przypadków stanowili chorzy ze szpiczakiem plazmocytowym. W publikacji podkreślono, że epizody zakrzepicy nie miały wpływu na przeżycie i przebieg choroby nowotworowej. Jako czynnik predysponujący w grupie pacjentów z nowotworami limfoproliferacyjnymi zidentyfikowano wyższą liczbę płytek krwi, natomiast nie obserwowano istotnych różnic w pozostałych parametrach morfologii, parametrach biochemicznych, testach przesiewowych układu hemostazy ani badaniach antropometrycznych. Autorzy stwierdzili również, że używane powszechnie skale prognostyczne, takie jak Khoran score dla pacjentów z chłoniakami i IMPEDE-VTE oraz SAVED score dla chorych ze szpiczakiem, nie identyfikują właściwie chorych najwyższego ryzyka. Istotnym elementem opisanych badań była analiza zjawiska tworzenia zewnątrzkomórkowych pułapek neutrofilowych (NETozy), ocenianego za pomocą oznaczania osoczonego stężenia cytrulinowanego histonu H3 (CH3). Stwierdzono, że u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym stężenie CH3 korelowało pozytywnie z beta-2-mikroglobuliną, markerem aktywności choroby, natomiast negatywnie ze stężeniem hemoglobiny. Ponadto u pacjentów z bardziej zaawansowaną chorobą według ISS (International Staging System) aktywność procesu NETozy była istotnie wyższa, co według interpretacji autorów mogło sugerować udział tego zjawiska w progresji choroby. Nie obserwowano związku między stężeniem CH3 a powstawaniem CAT, co według autorów nie potwierdziło udziału procesu NETozy w powstawaniu zakrzepicy indukowanej nowotworem w przypadku nowotworów limfoproliferacyjnych.

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską oceniam pozytywnie. Od strony merytorycznej dysertacja zasługuje na duże uznanie i nie budzi zastrzeżeń. Doktorantka wykazała się dużą i aktualną wiedzą teoretyczną, a także umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań, analizy wyników i wyciągania wypływających z nich wniosków. Również od strony redakcyjnej praca została przygotowana poprawnie. W związku z powyższymi faktami oraz z wcześniejszym opublikowaniem wyników w recenzowanych czasopismach naukowych, trudno jest znaleźć merytoryczne błędy w przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej. Podsumowując, w przedstawionym w ramach rozprawy doktorskiej cyklu publikacji analizowano czynniki ryzyka zakrzepicy u chorych z nowotworami limfoproliferacyjnymi, zbadano aktywność procesu tworzenia zewnątrzkomórkowych pułapek neutrofilowych w tej populacji, opisano czynniki ryzyka powikłań zakrzepicy odcewnikowej u chorych ze szpiczakiem plazmocytowym poddawanych autologicznej transplantacji komórek krwiotwórczych oraz przeanalizowano problem ryzyka powikłań krwotocznych i zakrzepowych u chorych ze szpiczakiem i współistniejącą nabytą

hemofilią A. W trzech publikacjach wchodzących w skład cyklu zrealizowano założenia rozprawy. W pracy pogładowej przedyskutowano złożone zaburzenia hemostazy u chorych ze szpiczakiem plazmocytowym i ryzyko zakrzepowe związane z leczeniem nabytej hemofilii A, mogącej towarzyszyć rozpoznaniu choroby nowotworowej. W badaniach retrospektywnych potwierdzono znaczenie tradycyjnych czynników ryzyka zakrzepicy odcewnikowej, takich jak dodatni wywiad zakrzepowy oraz zakażenie związane z obecnością cewnika naczyniowego, a także zidentyfikowano nowy czynnik ryzyka w postaci powikłań ze strony przewodu pokarmowego. Wykazano, że zakrzepica indukowana nowotworem pozostaje ważnym problemem klinicznym u chorych z nowotworami limfoproliferacyjnymi, a równocześnie ważnym spostrzeżeniem było wykazanie, że istniejące skale prognostyczne nie wystarczają do identyfikacji chorych z grupy wysokiego ryzyka zakrzepicy u chorych z nowotworami limfoproliferacyjnymi. W części eksperymentalnej nie wykazano wpływu NETozy na zakrzepicę indukowaną nowotworem u chorych z nowotworami limfoproliferacyjnymi, ale NEToza może być markerem zaawansowania choroby u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymogi określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”. Wnoszę do Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lek. Anny Hoppe do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Norbert Grząsko



Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej

Uniwersytet Medyczny w Lublinie