



UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Klinika Neonatologii

Kierownik; prof. dr hab. med. Barbara Królak-Olejek

Wasze pismo z dnia:

Wasz znak:

Nasz znak:
WL-30/ 9 /21

Data
Wrocław 23.04.2021

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. Dominiki Jedlińskiej-Pijanowskiej pt.:

„Czynniki wpływające na obraz kliniczny i leczenie wrodzonego

zakażenia wirusem cytomegalii”

Zakażenie wrodzone wirusem cytomegalii (cCMV) jest jedną z groźniejszych w skutkach chorób wirusowych człowieka i najczęstszym na świecie wrodzonym zakażeniem noworodków. Mimo wysokiego odsetka zakażeń, badania przesiewowe u ciężarnych w kierunku zakażenia CMV nie są zalecane. Badaniami przesiewowymi nie są również objęte noworodki. Postać bezobjawowa zakażenia, może w przyszłości powodować deficyty neurologiczne czy niedosłuch. Podatność na zakażenie CMV i jego przebieg u płodu/novorodka zależą od wielu czynników, min. wieku kobiet ciężarnych, stanu ich układu immunologicznego, momentu zakażenia CMV w trakcie ciąży czy statusu serologicznego ciężarnej. Pierwszą linię obrony przed zakażeniem wirusowym stanowią mechanizmy nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. Uważa się, że zmienność sekwencji ludzkiego DNA genów kodujących cytokiny czy receptory może determinować indywidualną podatność organizmu na występowanie chorób czy reakcję na leki. Polimorfizmy pojedynczych genów badano w aspekcie zakażeń CMV u pacjentów po przeszczepieniu narządów oraz u biorców komórek macierzystych. Pojedyncze badania dotyczą noworodków. Nie poznano i nie wyjaśniono dotychczas mechanizmów odpowiedzialnych za przebieg zakażenia i różnorodność obrazu klinicznego czy podatność na leczenie u pacjentów z wrodzonym zakażeniem. Nadal brak jest odpowiedzi na pytanie, dlaczego u niektórych noworodków dochodzi do zajęcia ośrodkowego układu nerwowego czy uogólnionej choroby z zajęciem wielu narządów, a u innych przebieg jest bezobjawowy. Odległe następstwa bowiem występują nie tylko u dzieci z objawową postacią choroby, ale także u pacjentów z bezobjawowym przebiegiem zakażenia po urodzeniu. Dwa spośród pięciu leków stosowanych w leczeniu zakażenia CMV znalazło jak dotąd zastosowanie w neonatologii. Początkowo w leczeniu cCMV zalecano wyłącznie 6-tygodniową dożylną terapię Gancyklowirem (GCV), aktualne rekomendacje europejskie, światowe i polskie zalecają 6-miesięczną terapię.

Wybór tematu rozprawy doktorskiej lek. Dominiki Jedlińskiej-Pijanowskiej uważam zatem za zasadny i bardzo istotny - brakuje bowiem w literaturze rodzimej danych dotyczących

czynników ryzyka istotnych dla obrazu klinicznego i rozpoznania cCMV oraz wskazań do leczenia. Szczególnie istotna jest analiza polimorfizmów genów kodujących cytokiny i receptory w cCMV, co być może umożliwi prognozowanie przebiegu infekcji i osobnicze różnice z tym związane.

Na rozprawę doktorską składa się monotematyczny cykl czterech artykułów opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych, indeksowanych w bazie pubmed lub/oraz znajdujących się na liście Journal Citation Reports.

1. Dominika Jedlińska-Pijanowska, Justyna Czech-Kowalska, Anna Dobrzańska. Rola nieswoistej odpowiedzi immunologicznej we wrodzonym zakażeniu wirusem cytomegalii (The role of innate immunity in congenital cytomegalovirus infection) *Standardy Medyczne/Pediatrics*: 2019; T.16; 766-771
2. Dominika Jedlińska-Pijanowska, Beata Kasztelewicz, Justyna Czech-Kowalska, Maciej Jaworski, Klaudia Charusta-Sienkiewicz, Anna Dobrzańska. Association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of IL1, IL12, IL28 and TLR4 and symptoms of congenital cytomegalovirus infection. *PLoS One*. 2020;15(5):1-22; doi.org/10.1371/journal.pone.0233096
3. Dominika Jedlińska-Pijanowska, Beata Kasztelewicz, Anna Dobrzańska, Katarzyna Dzierżanowska-Fangrat, Maciej Jaworski, Justyna Czech-Kowalska. Association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) and viral load in congenital cytomegalovirus infection *JMotherandChild*.2020;24(4):1-15;doi:10.34763/jmotherandchild.20202404.d-20- 00014; in press
4. Dominika Jedlińska-Pijanowska, Justyna Czech-Kowalska, Magdalena Kłodzińska, Aleksandra Pietrzyk, Eliza Michalska, Kinga Gradowska, Anna Dobrzańska, Beata Kasztelewicz, Dariusz Gruszczyński. Antiviral treatment in congenital HCMV infection: The six-year experience of a single neonatal center in Poland. *Adv Clin Exp Med*. 2020;29(10):1161–1167; doi:10.17219/acem/125427

Łączna wartość współczynnika oddziaływania IF wynosi 4.254 oraz 165 punktów według wykazu czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. We wszystkich publikacjach lek. Dominika Jedlińska-Pijanowska, jest pierwszym autorem. Udział Doktorantki w przygotowaniu wszystkich publikacji został potwierdzony stosownymi oświadczeniami współautorów.

Rozprawa doktorska ma układ typowy, na 142 stronach maszynopisu znajdują się streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, w którym omówiona została epidemiologia, obraz kliniczny i diagnostyka cCMV oraz czynniki wpływające na przebieg infekcji a także leczenie. W kolejnym rozdziale omówione zostały cele rozprawy doktorskiej a następnie umieszczono wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską oraz opublikowane prace. W kolejności umieszczone zostały omówienie prac oraz podsumowanie i wnioski, a także oświadczenia współautorów i zgoda Komisji Bioetycznej. Rozprawę doktorską kończy piśmiennictwo.

Cele pracy zarówno główny, jak i szczegółowe, są spójne z tematem zasadniczym jak również z załączonymi publikacjami. Głównym - była ocena czynników wpływających na obraz kliniczny i leczenie noworodków z wrodzonym zakażeniem wirusem cytomegalii. Doktorantka wyodrębniła 3 cele szczegółowe:

1. Ustalenie związku wybranych polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNPs) genów kodujących cytokiny i receptory z ryzykiem wrodzonego zakażenia wirusem cytomegalii oraz z objawowym przebiegiem choroby.
2. Ustalenie związku tych samych wybranych polimorfizmów pojedynczego nukleotydu genów kodujących cytokiny i receptory z wiramią oraz wirurią.
3. Porównanie dwóch metod leczenia noworodków z cCMV: Gancyklowirem (terapia dożylna lub sekwencyjna) oraz Walgancyklowirem (terapia doustna).

Wszystkie dzieci włączone do badania były hospitalizowane w Klinice Neonatologii, Patologii i Intensywnej Terapii Noworodka IPCZD w latach 2012-2019 (92 pacjentów z potwierdzonym zakażeniem cCMV oraz 141 pacjentów stanowiących grupę kontrolną).

Materiał i zastosowane metody badań zostały bardzo szczegółowo opisane w publikacjach, a podsumowane w rozprawie doktorskiej. Analiza polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) we wrodzonym zakażeniu wirusem cytomegalii została wykonana w ramach grantu wewnętrznego IPCZD nr 158/2017 z 2017r. pod tytułem: „Wpływ polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) na obraz kliniczny wrodzonego zakażenia wirusem cytomegalii”

W pierwszych trzech opublikowanych pracach przedstawiono rolę polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP) genów kodujących interleukiny i receptory w cCMV. W pracy poglądowej omówione zostały czynniki determinujące przebieg złożonej relacji wirus - organizm gospodarza w czasie zakażenia. Dane wskazują, iż polimorfizmy mogą mieć udział w indywidualnej immunologicznej odpowiedzi organizmu na zakażenie i tym samym wpływać na jego przebieg. Dwie kolejne publikacje (oryginalne, prospektywne) prezentują wyniki analiz dotyczących badanych polimorfizmów a ryzykiem cCMV, objawowym przebiegiem choroby, poszczególnymi objawami zakażenia oraz liczbą kopii DNA wirusa we krwi i w moczu. Wykazano związek między czterema polimorfizmami genetycznymi SNPs (IL1B rs16944, IL12B rs3212227, IL28B rs12979860, TLR4 rs4986791) i poszczególnymi objawami cCMV w postaci wcześniactwa, splenomegalii, małopłytkowości oraz zapalenia wątroby. Stwierdzono zależność pomiędzy polimorfizmem SNP IL12B rs3212227 a liczbą kopii wirusa we krwi i w moczu u noworodków z cCMV: wykazano, że heterozygoty T/G mają predyspozycję do wyższej wirurii w stosunku do homozygot T/T, natomiast allel T w stosunku do allela G predysponuje do wyższej wirerii u noworodków z objawowym przebiegiem zakażenia.

Czy możliwe jest wyjaśnienie w jakim mechanizmie polimorfizmy determinują objawy wrodzonej cytomegalii? Wykazano zależność między genotypami badanych polimorfizmów a wirurią. Czy możliwe jest zastosowanie tych badań w praktyce?

W czwartej pracy porównano metody leczenia przeciwwirusowego. Pierwszą grupę stanowili pacjenci otrzymujący dożylny GCV (wyłącznie GCV lub w formie terapii sekwencyjnej z VGCV). Drugą grupę stanowili pacjenci, u których stosowano wyłącznie doustną postać leku VGCV. W porównaniu do monoterapii GCV, monoterapia VGCV pozwoliła skrócić czas hospitalizacji ponad 6-krotnie. Ponadto, po monoterapii VGCV uzyskano istotne obniżenie wirerii (ponad 70-krotnie). Jednakże terapia sekwencyjna jest nadal optymalna dla noworodków z ciężką postacią zakażenia cCMV oraz dla noworodków, które nie tolerują żywienia enteralnego. Objawy niepożądane leczenia przeciwwirusowego częściej występowały w grupie leczonej GCV.

W publikacji 2 i 3 dotyczących polimorfizmu włączono do badań 92 noworodki z rozpoznaną cCMV, hospitalizowane w Klinice w latach 2016-2019, natomiast w 4 publikacji porównano metody leczenia przeciwwirusowego u 98 noworodków, hospitalizowanych w latach 2012-2017. Ile noworodków z cCMV hospitalizowano w latach 2012-2019? Czy udało się wyodrębnić grupę pacjentów u których dokonano oceny polimorfizmów i sposobu leczenia? Ilu pacjentów spośród analizowanej grupy stanowiły noworodki urodzone przedwcześnie?

Omówienie uzyskanych wyników zostało przedstawione przez Doktorantkę na stronach 93-103 oraz w opublikowanych artykułach.

Wszystkie publikacje składające się na rozprawę doktorską oparte są o prawidłowo dobrane piśmiennictwo naukowe i świadczą o dużych umiejętnościach doktorantki w wykorzystywaniu źródeł naukowych.

Wnioski wynikające z cyklu publikacji, są jednoznaczną odpowiedzią na główny i szczegółowe cele pracy.

1. Analizowane polimorfizmy genetyczne SNPs nie wpływają na ryzyko wrodzonego zakażenia CMV, ale mają wpływ na obraz kliniczny wrodzonej cytomegalii:

- Polimorfizm SNP IL12B rs3212227 zmniejsza ryzyko wcześniactwa o 63%, zaś polimorfizm SNP IL1B rs16944 zmniejsza ryzyko splenomegalii o 64%.
- Polimorfizm SNP IL28B rs12979860 zwiększa ryzyko małopłytkowości ponad dwukrotnie, a polimorfizm SNP TLR4 rs4986791 prawie 8-krotnie zwiększa ryzyko zapalenia wątroby.

2. Leczenie walgancyklowirem umożliwia długotrwałe hamowanie aktywności replikacyjnej wirusa, pozwala skrócić czas hospitalizacji oraz zmniejszyć ryzyko objawów niepożądanych.

3. Terapia sekwencyjna jest optymalnym sposobem leczenia noworodków z wrodzoną objawową cytomegalią, będących w ciężkim stanie ogólnym lub nietolerujących żywienia enteralnego.

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na drobne niedociągnięcia dotyczące głównie potocznych określeń medycznych oraz drobnych błędów stylistycznych. Na str. 15 „podwyższona aminotransferaza asparaginowa...”, powinno być podwyższona aktywność aminotransferazy asparaginowej. Na tej samej stronie wyjaśniono skrót IUGR jako wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania, zgodnie z rekomendacją Polskiego Towarzystwa Neonatologicznego, mówimy o wewnątrzmacicznym ograniczeniu wzrastania. Na str. 18 SNP opisano jako polimorfizm pojedynczego nukleotydu, natomiast w kolejnych zdaniach prezentowane są i opisywane polimorfizmy SNP, czyli polimorfizmy polimorfizmów pojedynczych nukleotydów. Stylistycznej korekty wymagają zdania na str. 20 - Po pierwsze zdecydowano o poszerzeniu badań... zdecydowanie korzystniej byłoby napisać Zdecydowano o poszerzeniu zakresu badań... oraz Po drugie podjęto się analizy...korzystniej byłoby napisać Ponadto przeanalizowano..

Str. 93 „praca stanowi artykuł poglądowy przedstawiający rolę...” poprawniej byłoby W pracy omówiono rolę...”

str. 94 „Finalnie omówiono zagadnienie...” oraz „pojedyncze doniesienia opisują...” poprawnie Na zakończenie omówiono oraz autorzy opisują

Rozprawa doktorska lek. Dominiki Jedlińskiej-Pijanowskiej to oryginalne opracowanie naukowe, aktualne tematycznie i dostarczające nowych dla wiedzy klinicznej danych, które uzasadniają konieczność kontynuacji badań w tym zakresie. Drobne uwagi i pytania nie mają wpływu na ocenę przedstawionej mi do recenzji pracy. Doktorantka w pełni odpowiedziała na zagadnienia postawione w celu pracy i wykazała się wiedzą teoretyczną w temacie badania oraz umiejętnością prowadzenia i realizacji pracy naukowej. Wszystkie prace będące podstawą rozprawy zostały poddane ocenie przez niezależnych recenzentów w procesie publikacji, uzyskały pozytywne recenzje, dlatego ich wartość merytoryczna nie podlega dyskusji i dodatkowej ocenie.

Rozprawa doktorska lek. Dominiki Jedlińskiej-Pijanowskiej pt. „Czynniki wpływające na obraz kliniczny i leczenie wrodzonego zakażenia wirusem cytomegalii” odpowiada merytorycznym i formalnym wymogom stawianym na stopień doktora nauk medycznych oraz spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami).

Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie wniosek o dopuszczenie lek. Dominiki Jedlińskiej-Pijanowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje także o wyróżnienie rozprawy doktorskiej ze względu na interesujący materiał badawczy, bardzo istotne analizy kliniczne i statystyczne, ciekawą dyskusję, a także możliwość praktycznego zastosowania uzyskanych danych. Szczególnie ważne jest podjęcie badań dotyczących analizy wybranych polimorfizmów oraz ocena zależności od przebiegu infekcji wirusowej i wirurii. W grupie polskich noworodków jest to pierwsze badanie analizujące czynniki wpływające na obraz kliniczny oraz metody leczenia cCMV. Rozprawa doktorska stanowi cykl czterech prac - 1 pogładowej i 3 oryginalnych opublikowanych w języku angielskim w recenzowanych czasopismach naukowych. Łączna wartość współczynnika oddziaływania IF wynosi 4,254 oraz 165 punktów wg wykazu czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I KLINIKA NEONATOLOGII
kierownik
prof. dr hab. med. Barbara Królak-Olejnik