

Prof. dr hab.med. Krystyna Zawilska
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego;
Centrum Diagnostyczno- Lecznicze INTERLAB
ul. 28 Czerwca 1956 r. nr 161
61-505 Poznań; tel. 61 8333949; fax 61 8331785
e.mail: k.zawilska@interia.pl
tel. kom. 604 425 452

Poznań, 22. 06. 2016 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Beaty Baran
z Zakładu Hemostazy i Chorób Metabolicznych Instytutu Hematologii i Transfuzjologii
w Warszawie pt. „Wpływ mutacji sprawczej na aktywność czynnika VIII mierzonej
metodą koagulacyjną jednostopniową i chromogenną oraz nasilenie objawów skazy
krwotocznej w umiarkowanej i łagodnej hemofilii A”**

Celem pracy doktorskiej mgr Beaty Baran była analiza podłoża genetycznego u pacjentów z umiarkowaną i łagodną hemofilią A oraz ustalenie związku pomiędzy rodzajem mutacji sprawczej, a fenotypem klinicznym choroby. Drugim zadaniem było porównanie wyników badań diagnostycznych u tych pacjentów: oznaczania aktywności czynnika VIII jednostopniową metodą koagulacyjną z metodą chromogenną, oraz analiza wyników w odniesieniu do generacji trombiny. Jest to zagadnienie ważne zarówno z poznawczego punktu widzenia jak i dla medycyny praktycznej, ponieważ nie określono dotąd rodzaju mutacji sprawczych i ich związku z fenotypem w polskiej populacji chorych na umiarkowaną lub łagodną hemofilię, a diagnostyka tych postaci hemofilii jest często obarczona błędami, wynikającymi głównie z niedoskonałości stosowanego powszechnie w laboratoriach pomiaru aktywności czynnika VIII metodą jednostopniową.

Wstęp został opracowany bardzo szeroko i oprócz podstawowych wiadomości o hemofilii A, jej molekularnym podłożu i procedurach diagnostycznych, zawiera najnowsze informacje dotyczące zagadnień objętych tematem pracy, ze szczególnym uwzględnieniem zjawiska rozbieżności wyników oznaczania aktywności czynnika VIII w zależności od stosowanej metody oraz problemach diagnostycznych przy rozpoznawaniu umiarkowanej i łagodnej hemofilii A. Autorka włączyła do badań 60 pacjentów z 56 rodzin, w tym ponad 70% stanowiły osoby z rozpoznaniem łagodnej hemofilii A, ustalonym metodą jednostopniową.

Mgr Beata Baran zastosowała nowoczesne metody badawcze m.in. – chromogenną metodę oznaczania aktywności czynnika VIII, badanie zawartości antygeny czynnika VIII, test generacji trombiny, test wiązania czynnika von Willebranda z czynnikiem VIII oraz analizę sekwencyjną genu kodującego czynnika VIII. Opis metod badawczych jest opracowany bardzo starannie i szczegółowo. Jedynym zastrzeżeniem jest brak określenia w ilu rozcieńczeniach badanego osocza było wykonywane badanie aktywności czynnika VIII jednostopniową metodą koagulacyjną. Wiadomo bowiem, że jeżeli się używa jednego tylko rozcieńczenia, to istnieje ryzyko uzyskania wyników fałszywie zaniżonych ze względu na możliwą obecność antykoagulantu toczniowego. Z piśmiennictwa wynika, że wyniki uzyskane w ośrodkach leczenia hemofilii w Wielkiej Brytanii stosujących tylko jedno rozcieńczenie badanego osocza w teście jednostopniowego oznaczania aktywności czynnika VIII były u chorych na łagodną hemofilię znamienne niższe, w porównaniu w ośrodkami, w których stosowano 3 rozcieńczenia. Może to być szczególnie istotne, gdyż używany przez mgr Beatę Baran odczynnik do pomiaru APTT (Actin FSL; Siemens, Niemcy) zawiera małe stężenie fosfolipidów, co powoduje jego dużą wrażliwość na antykoagulant toczniowy.

Uzyskane wyniki badań Autorka przedstawiła w sposób łatwy do percepcji, poprawnym językiem i w ładnej szacie graficznej. Na podkreślenie zasługuje wyeliminowanie, dzięki zastosowaniu kompleksowej diagnostyki, 9 błędnie rozpoznanych testem jednostopniowym przypadków łagodnej lub umiarkowanej hemofilii A - u 7 pacjentów rozpoznanie zmieniono na ciężką postać hemofilii A lub na postać 2N choroby von Willebranda, a u 2 osób wykluczono obecność skazy krwotocznej. Dużą wartość praktyczną ma opracowany przez Autorkę algorytm diagnostyczny, który umożliwi niewątpliwie uniknięcie podobnych błędów i przyczyni się do poprawy wykrywalności oraz precyzyjniejszego przewidywania przebiegu klinicznego łagodnej i umiarkowanej hemofilii A. Wyniki badań potwierdzają też zasadę, że test chromogeny oznaczania czynnika VIII, najlepiej łącznie analizą sekwencyjną genu czynnika VIII i w wątpliwych przypadkach oceną generacji trombiny, powinien być stosowany w diagnostyce osób, u których objawy kliniczne albo wywiad rodzinny nasuwają podejrzenie łagodnej hemofilii.

Dużą zaletą pracy jest bardzo staranna analiza genetyczna - udało się zidentyfikować u chorych na łagodną lub umiarkowaną hemofilię A 31 różnych mutacji sprawczych, w tym pięć dotychczas nieopisanych. Autorka oceniła także związek wykrytych mutacji sprawczych z wybranymi parametrami klinicznymi oceniającymi nasilenie skazy krwotocznej. Określiła ponadto 9 nieopisanych dotąd mutacji w genie czynnika VIII, odpowiedzialnych za zjawisko rozbieżności wyników w dwóch metodach oznaczania zawartości czynnika VIII. Z określenia

mutacji, których obecność wiąże się ze skłonnością do krwawień dostawowych wynikają implikacje terapeutyczne.

Przeredagowania wymagają wnioski nr 1 i nr 6, które nie różnią się od wyników badań. Wnioski są zgodne z uzyskanymi wynikami badań.

Należy podkreślić szeroki zakres wiadomości, które Autorka zamieściła w rozdziale „Omówienie wyników”.

Zestaw piśmiennictwa (226 pozycji) obejmuje starannie wybrane, dawne i aktualne osiągnięcia w dziedzinach związanych z tematem pracy.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska mgr Beaty Baran świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Autorki do pracy naukowej. Analiza objęta tematem rozprawy doktorskiej jest oparta na stosunkowo dużym materiale chorych na umiarkowaną i łagodną hemofilię A, została przeprowadzona bardzo starannie, kompetentnie, z dużym nakładem pracy, a jej wyniki mają znaczenie poznawcze i praktyczne.

Rozprawa mgr Beaty Baran pt. „Wpływ mutacji sprawczej na aktywność czynnika VIII mierzonej metodą koagulacyjną jednostopniową i chromogenną oraz nasilenie objawów skazy krwotocznej w umiarkowanej i łagodnej hemofilii A” spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, wnoszę więc o dopuszczenie na jej podstawie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Krystyna Zawilska

