

Recenzja pracy doktorskiej Agaty Gabryelskiej
Z Zakładu Medycyny Snu i Zaburzeń Medycznych
Międzywydziałowej Katedry Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

wykonanej pod kierunkiem prof. nadzw. dr hab. Piotra Białasiewicza

„Wpływ hipoksemii na zmianę ekspresji czynnika HIF-1alfa u chorych na zespół obturacyjnego bezdechu sennego”

Większość społeczeństw współczesnego świata boryka się z podobnymi problemami związanymi z starzeniem się społeczeństw, epidemią otyłości, narażeniem na zanieczyszczenie powietrza. Powoduje to zwiększenie częstości występowania chorób układu oddechowego jak POChP, obturacyjnego bezdechu sennego, raka płuca, zapalenia płuc, śródmiąższowych chorób płuc. Prowadzą one do przewlekłej niewydolności oddechowej, zwiększając odsetek chorych ginących z powodu chorób układu oddechowego.

Obturacyjny bezdech senny (OBS) jest schorzeniem związanym z nawracającymi zaburzeniami oddychania podczas snu prowadzącymi do objawów nocnych i dziennych prowadzącymi do senności, przewlekłego zmęczenia i upośledzenie codziennego funkcjonowania chorych. Ponadto, OBS jest istotnym czynnikiem ryzyka nadciśnienia, choroby wieńcowej, zaburzeń rytmu, udaru mózgu, powikłań metabolicznych, refluksu żołądkowo-przełykowego i nowotworów. Rozpoznanie choroby opiera się na badaniu polisomnograficznym, nie dysponujemy obecnie wiarygodnym badaniem laboratoryjnym pomocnym w rozpoznaniu. Jednym z białek badanych intensywnie w OBS i innych chorobach związanych z przewlekłą hipokseміą jest HIF – ang. *hypoxemia inducible factor*, które reguluje aktywację wielu białek w odpowiedzi na niedotlenienie. Biorąc pod uwagę powyższe informacje uważam, że wybór tematu rozprawy doktorskiej przez Pani Agatę Gabryelskiej jest ważny i uzasadniony.

Przedstawiona mojej ocenie praca obejmuje 106 stron maszynopisu, 17 rycin, 19 tabel. Autorka cytuje aż 293 pozycje piśmiennictwa, w większości z ostatnich 10 lat. Praca ma typowy układ dla prac doktorskich i składa się z spisu treści, wstępu, celów, pytań i hipotez badawczych, materiału i metod, wyników badań, dyskusji, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim.

W części teoretycznej autorka opisuje szczegółowo epidemiologię OBS, patofizjologię choroby, jej objawy, metody rozpoznania, leczenia. Ciekawy jest podrozdział poświęconym czynnikowi HIF, który świadczy o dogłębnej analizie problemu przed rozpoczęciem badań. Ta część wstępu wskazuje na szeroką wiedzę doktorantki dotyczącą najnowszych osiągnięć genetyki, biochemii i patofizjologii.

Na podstawie problemów przedstawionych we wstępie autorka sformułowała cele pracy, którymi były:

- „1. Ocena stężenia białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej oraz ekspresji HIF-1 α na poziomie mRNA w populacji pacjentów chorych na OBS i w grupie osób zdrowych.
2. Ocena stężenia białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej jako czynnika predykcyjnego OBS.
3. Analiza związków ekspresji HIF-1 α na poziomie mRNA i stężenia białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej pomiędzy populacją pacjentów chorych na OBS, a grupą osób zdrowych.
4. Analiza wpływu jednorazowego leczenia aparatem CPAP na stężenie białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej oraz ekspresję HIF-1 α na poziomie mRNA w populacji pacjentów chorych na OBS.”.

Doktorantka sformułowała również cztery pytania badawcze związane z postawionymi celami:

- „1. Jak jest stężenie białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej oraz ekspresja HIF-1 α na poziomie mRNA w populacji pacjentów chorych na OBS i w grupie osób zdrowych?

2. Jaka jest wartość predykcyjna stężenia białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej dla rozpoznania OBS?

3. Czy istnieje związek pomiędzy stężeniem białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej i ekspresją HIF-1 α na poziomie mRNA, a ciężkością OBS w badanej grupie pacjentów?

4. Czy istnieje związek pomiędzy jednorazowym leczeniem aparatem CPAP, a stężeniem

białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej i ekspresją HIF-1 α na poziomie mRNA w populacji pacjentów chorych na OBS?”

Cele i hipotezy badawcze skłoniły autorkę do postawienia czterech hipotez badawczych, których weryfikacja była treścią prowadzonej pracy:

„1. Istnieją różnice w stężeniu białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej, ale nie ekspresji

HIF-1 α na poziomie mRNA pomiędzy populacją pacjentów chorych na OBS, a grupą osób zdrowych.

2. Stężenie białka HIF-1 α może być potencjalnym czynnikiem predykcyjnym dla OBS

3. Istnieją zależności pomiędzy stężeniem białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej, ale nie ekspresją HIF-1 α na poziomie mRNA, a ciężkością OBS w badanej grupie pacjentów.

4. Istnieją zależności pomiędzy jednorazowym leczeniem aparatem CPAP, a stężeniem białka HIF-1 α , ale nie ekspresją HIF-1 α na poziomie mRNA w surowicy krwi obwodowej w populacji pacjentów chorych na OBS.”

Metodologia pracy prowadzona była z użyciem nowoczesnych metod, a stopniowy sposób dochodzenia do poszczególnych wyników pracy świadczy o metodycznym i planowym prowadzeniu badania.

Badania prowadzone były w dwóch częściach przekrojowej – w grupie 84 chorych oraz obserwacyjnej – 16 chorych. Przebieg badania odpowiadał standardowej procedurze diagnostycznej – leczniczej, stosowanej u chorych na OBS. Dodatkowo poszerzony był o molekularne i biochemiczne oceniające ekspresję mRNA HIF-1 α metodą metodą qRT-PCR oraz ocenę stężenia białka – metodą ELISA. Metodologia badania jest opisana bardzo szczegółowo co pozwala na weryfikację i replikację osiągniętych wyników. Analiza statystyczna jest bardzo dobrze zaplanowana, zastosowano również poprawkę Bonferoniego dla porównań wielokrotnych.

Wyniki badań Pani Agaty Gabryelskiej potwierdziły istotnie wyższe stężenia białka HIF-1 α w surowicy krwi chorych na OBS w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie zaobserwowano różnicy pomiędzy wieczornym i porannym stężeniem białka. Nie wykazano różnic w ekspresji mRNA HIF-1, pomiędzy grupą OBS i grupą kontrolną, jak i w badaniach wykonywanych rano i przed snem. Wykazano korelację stężenia białka i objawów choroby. Bardzo cennym wynikiem, z klinicznego punktu widzenia, jest określenie stężenia białka jako markera choroby, dla którego określono czułość, swoistość, PPV, NPV.

Pracę podsumowuje dyskusja świadcząca o umiejętności swobodnego wykorzystania informacji zawartych w publikacjach naukowych. Autorka analizuje znaczenie wyników, ich wiarygodność, wyniki podobnych prac, krytycznie odnosząc się do stwierdzanych różnic wyników. Odnosząc się do wyników analizuje ich znaczenie patofizjologiczne, odmienności w różnych tkankach, będące wynikiem niedotlenienia. Wskazuje na możliwości aplikacji kliniczne wyników poprzez wprowadzenie nowego testu diagnostycznego. Mógłby on znacznie ułatwić badania przesiewowe i być może, w pewnej liczbie chorych uniknąć kosztowego i dla części chorych nieprzyjemnego badania polisomnograficznego. Opisuje badania nad nowymi lekami będącymi inhibitorami HIF-1 α , które mogą pomóc w leczeniu chorób współistniejących.

Na podstawie uzyskanych wyników i ich dyskusji Doktorantka wysnuła następujące wnioski:

„1. Istnieją różnice w stężeniu białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej pomiędzy populacją pacjentów chorych na OBS, a grupą osób zdrowych, którym nie towarzyszą różnice w ekspresji HIF-1 α na poziomie mRNA.

2. Stężenie białka HIF-1 α może mieć wartość diagnostyczną w OBS.

3. Istnieje zależność pomiędzy stężeniem białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej, a nasileniem OBS w badanej grupie pacjentów, w przeciwieństwie do ekspresji HIF-1 α na poziomie mRNA.

4. Jednorazowe leczenie aparatem CPAP nie ma wpływu na stężenie białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej w populacji pacjentów chorych na OBS, ani na ekspresję HIF-1 α na poziomie mRNA.

Wnioski te odpowiadają celom pracy opisanym w jej wstępie.

Z obowiązku recenzenta odnotuję nieliczne drobne błędy autorki, które proponuję skorygować przed publikacją wyników badań. Program Statistica produkowany jest przez firmę StatSoft z USA. Proponuję cytować głównie prace oryginalne będące źródłem opisywanych faktów, ograniczyć cytowanie prac poglądowych. Nie umniejszają wartości pracy.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa i wyniki przedstawionych badań stanowią wartościowe i interesujące opracowane. Rozprawa została dobrze opracowana i starannie wykonana. Wyniki uzyskane przez doktorantkę nie tylko poszerzają wiedzę o patofizjologii choroby ale mają również walor translacyjny. Dalsze badania mogą doprowadzić do stworzenia nowego, ciekawego narzędzia diagnostycznego. Prezentowane wyniki wskazują na nowe kierunki badań.

Uważam, że praca Pani Agaty Gabryelskiej „Wpływ hipoksemii na zmianę ekspresji czynnika HIF-1 α u chorych na zespół obturacyjnego bezdechu sennego” w pełni spełnia

wymagania stawiane pracom doktorskim stanowiąc samodzielne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazują ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie medycyny klinicznej, genetyki i patofizjologii. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Pani Agaty Gabryelskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnoszę również o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej. Wniosek ten uzasadnia 1) nowatorski charakter prowadzonych badań, 2) ich oryginalność i znaczenie dla rozwoju nauki i praktyki klinicznej.

Prof. dr hab. med. Marek Niedożytko
lekarz, specjalista alergologii,
chorób płuc, chorób wewnętrznych



1563406

Prof. dr hab. med. Marek Niedożytko

Gdańsk 27.02.2019.