



**Klinika Diabetologii i Chorób Wewnętrznych
Warszawski Uniwersytet Medyczny
SP CSK ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa
Tel. 599 25 83; fax: 599 25 82
Kierownik: dr hab. n. med. Leszek Czupryniak**

**Recenzja rozprawy doktorskiej
lek. Agaty Gabryelskiej**

***Wpływ hipoksemii na zmianę ekspresji czynnika HIF-1 α
u chorych na zespół obturacyjnego bezdechu sennego***

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Agaty Gabryelskiej jest oryginalnym opracowaniem ważnego zagadnienia współczesnej medycyny. Zespół obturacyjnego bezdechu sennego (OBS) jest istotnym problemem klinicznym dotyczącym rosnącej liczby osób, głównie mężczyzn i stanowi jedną z najpoważniejszych konsekwencji otyłości. OBS poważnie zakłóca, a czasem wręcz uniemożliwia codzienne funkcjonowanie osoby cierpiącej na tę chorobę. Wyzwaniem jest także leczenie OBS, gdyż długotrwałe stosowanie w czasie snu aparatu wytwarzającego stałe dodatnie ciśnienie powietrza w drogach oddechowych (CPAP) bardzo często nie jest przez chorych akceptowane. Leczenie mające większy charakter przyczynowy czyli trwała redukcja masy ciała także jest bardzo trudne w realizacji u większości pacjentów. Poznanie molekularnych mechanizmów zaburzeń wywoływanych przez OBS jest zatem ważnym elementem dążenia do rozwiązania tego problemu klinicznego o rosnącej wadze, i z tego chociażby powodu należy wysoko ocenić wybór tematu pracy doktorskiej przez lek. Agatę Gabryelską.

Praca, zachowując typowy układ, obejmuje jedynie 65 stron samego tekstu – i za zwięzłość przedstawienia złożonego i skomplikowanego w realizacji badania należą się Doktorantce słowa uznania. We Wstępie (zajmującym niewiele ponad klasyczne 1/3 pracy) opisano krótko fizjologię snu, zaburzenia oddychania w czasie snu, zespół OBS – od definicji przez diagnostykę i leczenie oraz – bardzo szeroko – czynnik indukowany hipokseміą (HIF) stanowiący główny przedmiot pracy. Bardzo

interesującą częścią Wstępu jest właśnie obszerny i dogłębny opis tej molekuly, zawierający szczegółowe informacje na temat struktury molekularnej, regulacji aktywności genów, na które HIF oddziałuje oraz aktualnej wiedzy na temat znaczenia HIF w OBS. Przy tak szerokim omówieniu elementów biochemicznych i molekularnych badania powstaje jednak niedosyt wynikający z pewnego skrótowego potraktowania aspektów klinicznych OBS, jego patofizjologii, powikłań i leczenia. Sugeruje to większe zainteresowanie Doktorantki częścią molekularną niż kliniczną badania, co jest zrozumiałe jeżeli weźmie się pod uwagę który z tych elementów charakteryzuje się w większym stopniu nowością i oryginalnością. Zrozumiałe jest bowiem, że badanie molekuly, o której losach w OBS niewiele dotychczas wiadomo, może budzić większy entuzjizm naukowy niż analiza klinicznego przebiegu OBS i jego leczenia.

Po przeprowadzeniu wyczerpującego wywodu uzasadniającego podjęcie tematu pracy Doktorantka formułuje cztery cele badania, których realizacji mają pomóc postawione cztery pytania badawcze i także cztery hipotezy. Głównym celem badania była ocena stężenia białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej oraz ekspresji HIF-1 α na poziomie mRNA w grupie osób z OBS, ocena jego stężenia surowicy krwi obwodowej jako czynnika predykcyjnego OBS, a także analiza związku ekspresji HIF-1 α na poziomie mRNA i stężenia białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej. Dodatkowym, bardzo interesującym celem pracy była analiza wpływu jednorazowego zastosowania terapii aparatem CPAP na stężenie białka HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej oraz ekspresję HIF-1 α na poziomie mRNA.

Powyższe cele zostały zasadniczo sformułowane trafnie i realistycznie, zastrzeżenie budzi jedynie dążenie do określenia HIF jako czynnika predykcyjnego OBS, jak to wymieniono w pktach 2 celów, pytań i hipotez badawczych. W badaniu mającym charakter przekrojowy takie podejście jest pewnym uproszczeniem, gdyż ten rodzaj badania pozwala jedynie na określenie związków pomiędzy badanymi zjawiskami, a do oceny znaczenia predykcyjnego niezbędne jest przeprowadzenie badania prospektywnego, w przebiegu którego będzie obserwowana pewna sekwencja zdarzeń, przynajmniej hipotetycznie ze sobą powiązanych. Ponadto, jak wynika z opisanej we Wstępie charakterystyki

patofizjologicznej HIF, synteza tego białka jest stymulowana przez niedotlenienie, nie zaś na odwrót, a więc to raczej OBS może być czynnikiem predykcyjnym stężenia HIF. W rozumieniu recenzenta HIF może stanowić marker zaawansowania OBS i nasilenia hipoksji i w tym sensie jego oznaczenie mogłoby mieć charakter predykcyjny. Jego znaczenie wydaje się jednak mieć przede wszystkim charakter diagnostyczny czyli stwierdzenie zwiększonego stężenia HIF-1 α w surowicy krwi obwodowej być może pozwalałoby – zapewne po wykluczeniu innych stanów niedotlenienia – postawić rozpoznanie OBS bez przeprowadzania skomplikowanych badań polisomnograficznych.

W części poświęconej metodyce badania Doktorantka opisuje kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów chorych do badania, zasady kwalifikacji chorych do grupy badanej i kontrolnej, przebieg badania, na które składała się część przekrojowa i obserwacyjna, przebieg polisomnografii oraz bardzo szczegółowo metody molekularnej i biochemicznej analizy HIF-1 α i analizy statystycznej. Tak dogłębny opis metod analitycznych wskazuje na doskonałe opanowanie warsztatu naukowego przez lek. A. Gabryelską, co jest jednocześnie gwarancją wysokiej jakości i wiarygodności przeprowadzonych badań.

W części przekrojowej badania wzięły udział 84 osoby i tak wysoka – jak na ten typ i przedmiot badań – liczebność grupy stanowi jedną z najistotniejszych wartości naukowych całego projektu. Do części obserwacyjnej zakwalifikowano jedynie 16 osób, ale również i te dane pochodzące z tej grupy chorych należy uznać za wiarygodne i rzetelne.

W części poświęconej wynikom badania przedstawiono w postaci tabel dane kliniczne dotyczące polisomnografii oraz podano – w postaci tabel i wykresów – obfite dane, włącznie z wynikami analiz licznych korelacjami i krzywymi ROC, związane z badaniami białka HIF-1 α . Wyniki wieńczą dane uzyskane z części obserwacyjnej badania. Najważniejszymi elementami przedstawionych wyników jest stwierdzenie faktu dwukrotnie wyższego stężenia HIF-1 α w grupie pacjentów chorujących na OBS w porównaniu z grupą kontrolną, gdyż – jak podaje Doktorantka – jest to pierwsze badanie, w którym zmierzono bezwzględne stężenie białka HIF-1 α w surowicy w grupie pacjentów z OBS, w dodatku wykazując niewystępowanie zmienności dobowej tego parametru.

Obserwacja ta może mieć istotne znaczenie dla wykorzystania pomiaru stężenia białka HIF-1 α w diagnostyce OBS i prawdopodobnie pozwala stężenie HIF-1 α traktować jako wykładnik przewlekłości stanu niedotlenienia organizmu. Ponadto w badaniu wykazano istotne korelacje pomiędzy stężeniem białka HIF-1 α a zmiennymi opisującymi niedotlenienie w czasie snu, w tym z całkowitą liczbą desaturacji, liczbą desaturacji przypadającą na godzinę snu, średnim poziomem saturacji podczas snu, średnim poziomem desaturacji podczas snu, minimalną saturacją podczas snu oraz liczbą desaturacji poniżej 90%, jednocześnie odnotowując dodatnią korelację pomiędzy stężeniem białka HIF-1 α a nasileniem OBS – i jest to bardzo istotna obserwacja kliniczna. Interesujące, zarazem mogący stanowić inspirację do dalszych badań, jest wykazanie niewystępowania korelacji pomiędzy ekspresją HIF-1 α na poziomie mRNA a stężeniem białka HIF-1 α w surowicy krwi. W badaniu obserwacyjnym nie zaobserwowano różnicy w stężeniu białka HIF-1 α po jednej nocy z efektywnym użyciem aparatu CPAP, w czasie której uzyskano znaczne obniżenie AHI i poprawę parametrów saturacji krwi. Obserwacja ta wzmacnia wyrażony wcześniej pogląd o wartości oznaczania stężenia białka HIF-1 α jako markera nasilenia przewlekłego niedotlenienia w przebiegu OBS.

W Dyskusji Doktorantka z bardzo dużą biegłością i swobodą odnosi się do uzyskanych danych. Bez tak częstego w tego typu opracowaniach przytaczania wyników *in extenso* wyczerpująco i w ocenie recenzenta bezbłędnie interpretuje ich znaczenie w świetle dostępnych choć nielicznych wyników uzyskanych przez innych badaczy. Dyskusja nacechowana jest dużą błyskotliwością intelektualną, czyta się ją wartko i z bardzo dużym zainteresowaniem. Sposób, w jaki Autorka analizuje dostępne dane literaturowe, porównuje je z uzyskanymi własnymi rezultatami i wyciąga wnioski zasługuje na najwyższe uznanie i budzi nieklamany podziw wynikający z głębokiej wiedzy Doktorantki z zakresu dziedziny będącej przedmiotem pracy doktorskiej. Dyskusja, będąca zazwyczaj najtrudniejszą do napisania częścią pracy, jest w wypadku niniejszego opracowania najbardziej wartościową jego częścią, w dużym stopniu z powodu jej bardzo szerokiego zakresu (np. bardzo ciekawie omówiono kwestię endoteliny ET-1).

Pracę wieńczą 4 wnioski, odpowiadające postawionym w pracy celom. Szczęśliwie we wniosku 2 podkreślono znaczenie diagnostyczne, a nie predykcyjne oznaczanie stężenia białka HIF-1 α . Na końcu opracowania znajduje się streszczenie w języku polskim i angielskim, spisy skrótów, rycin, tabel, 293 pozycji piśmiennictwa (w większości z ostatnich 15 lat) i informacja o źródłach finansowania pracy.

Przy pozytywnej ocenie całej pracy recenzent ma także obowiązek wskazać niedopatrzenia i niedociągnięcia, których usunięcie poprawi jakość pracy i ułatwi w przyszłości opublikowanie wyników przeprowadzonego badania. Z uchybień stwierdzonych w trakcie oceniania rozprawy doktorskiej lek. A. Gabryelskiej, oprócz już wymienionej kwestii sformułowania celów (ich pkt 2), należy wymienić:

1. We Wstępie odczuwalny jest brak szerszego omówienia trudności i ograniczeń związanych z przewlekłym stosowaniem CPAP u osób na OBS.
2. Nie podano szerszej klinicznej charakterystyki grupy badanej (występowanie chorób towarzyszących, jak np. nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, stosowane leki).
3. W przypadku opisu ryc. 10-12 nie jest jasne, czy wyniki dotyczą wszystkich osób biorących udział w badaniu czy tylko grupy z OBS.
4. Bardzo interesująca wydaje się być grupa badanych (z grupy z OBS czy grupy kontrolnej?), widoczna na wykresach na ryc. 10-11, u których wskaźnik AHI lub liczba desaturacji przyjmowały niskie wartości, a stężenie HIF-1 α wynosiło 4000-7000 pg/ml. Fenomen ten powinien być omówiony w Dyskusji – czy przyczyną wysokich wartości HIF-1 α były inne stany niedotlenienia?
5. Równie interesujące byłoby przedstawienie danych dla podgrupy osób z cukrzycą, u których przebieg OBS wywiera wpływ na wyrównanie metaboliczne cukrzycy, zwłaszcza że w Dyskusji kwestię związku między OBS a cukrzycą omówiono dość wyczerpująco.


Z uwag krytycznych o mniejszym kalibrze należy wymienić:

1. W nagłówkach tabel 10-12 mylnie podano liczebność grup, co może budzić wątpliwości która kolumna przedstawia dane dla której grupy.
2. Lekturę wyników ułatwiłoby, ze względu na ich obfitość, krótkie podsumowanie umieszczone na końcu tej części, a Dyskusja zyskałaby na przejrzystości gdyby podzielono ją na podrozdziały.
3. Recenzent należy do osób wspierających rozwój języka naukowego opartego na rodzimym słownictwie, z tego względu wyrazy takie jak „prewalencja” lepiej byłoby zastąpić „chorobowością” lub „występowaniem”.

Powyższe uwagi nie umniejszają ogólnie bardzo pozytywnej oceny pracy doktorskiej lek. A. Gabryelskiej. Przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi wartościową i na wskroś oryginalną analizę istotnego problemu współczesnej medycyny, stanowi samodzielne rozwiązanie problemu naukowego, a uzyskane wyniki mają charakter pionierski. Istotne znaczenie ma także aspekt praktyczny przeprowadzonego badania, mogący poprawić możliwości diagnostyki i monitorowania osób z OBS.

Przedstawiona do recenzji rozprawa spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

W związku z powyższym przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. Agaty Gabryelskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a z opisanych w podsumowaniu względów, a także z powodu na bardzo umiejętne połączenie przez lek. A. Gabryelską elementów badania klinicznego z badaniami z zakresu nauk podstawowych przedstawiam także Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej lek. A. Gabryelskiej.


prof nadzw. dr hab. med. Leszek Czupryniak
specjalista chorób wewnętrznych
i diabetologii
nr 4477

Warszawa, 1 marca 2019 r.