



UNIwersytet Jagielloński

COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI
KATEDRA FIZJOLOGII

31-531 Kraków, ul. Grzegorzewska 16
tel.: (0-12) 421 10 06, fax (0-12) 421 15 78

Kraków, dnia 11 stycznia 2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Aleksandry Sobolewskiej – Włodarczyk pt.:

„Związek zaburzeń cyklu dobowego z przebiegiem z nieswoistych chorób zapalnych jelit”

Od tysiącleci, rytm życia człowieka determinowany był przez zjawiska astronomiczne, a zwłaszcza relacje pomiędzy Słońcem, Ziemią i Księżycem. Ruch obiegowy Ziemi wokół Słońca wyznacza rytm roczny; nachylenie osi ziemskiej warunkuje zmienność pór roku, krążenie Księżyca wokół Ziemi umożliwia podział czasu na miesiące (czas 1 obiegu Księżyca wokół Ziemi) i tygodnie (czas 1 kwadry Księżyca). Najistotniejszy wpływ na fizjologię człowieka ma ruch obrotowy Ziemi wokół własnej osi, którego konsekwencją są dzień i noc, determinujące stan snu i czuwania w organizmach żywych. W 2017 roku, Nagrodę Nobla z fizjologii i medycyny otrzymali amerykańscy uczeni: Jeffrey Hall, Michael Rosbash i Michael Young za badania nad molekularnym mechanizmem wewnętrznego zegara organizmów, zwanego zegarem okołodobowym. Przeprowadzali oni doświadczenia na muszce owocowej, która, w przeszłości, odegrała istotną rolę w poznaniu podstawowych mechanizmów genetyki. Wyniki tych badań wskazują, iż za działanie zegara biologicznego odpowiadają wewnętrzne pętle sprzężeń zwrotnych ujemnych. Jednocześnie są one synchronizowane przez zewnętrzne źródło światła. Podobna regulacja zachodzi w organizmie ludzkim. Wobec tego, pojawia się pytanie: gdzie w organizmie ludzkim znajduje się miejsce synchronizacji naszego zegara biologicznego? Wyniki badań wskazują na szyszynkę. Szyszynka, w ciemności, produkuje hormon zwany melatoniną. Paradoksem jest, że nazwa

tego hormonu pochodzi od najmniej istotnej jego funkcji, tj. od rozjaśniania skóry. Rola ta mocno zaznaczona jest u płazów (szczególnie u kijanek), natomiast u ludzi – w bardzo małym stopniu. Ważniejszą rolą melatoniny jest pełnienie funkcji „hormonu dzieciństwa”, gdyż u dzieci produkowana jest w dużych ilościach, które hamują produkcję hormonów płciowych, zabezpieczając przed przedwczesnym pokwitaniem. U osób dorosłych, główną rolą melatoniny jest synchronizacja rytmu dobowego: czuwanie – sen.

U człowieka mechanizmy genetyczne zegara biologicznego zlokalizowane są w podwzgórzu, natomiast szyszynka, reagując na zmiany światło/ciemność, produkuje melatoninę.

Pojawia się kolejne pytanie: czy zaburzenie najważniejszego zegara biologicznego kontrolującego rytm sen – czuwanie może mieć wpływ na patogenezę chorób i czy znajomość tej zależności może być wykorzystana w modyfikacji postępowania terapeutycznego? Odpowiedzi na to pytanie podjęła się Doktorantka w ocenianej rozprawie doktorskiej, przeprowadzając analizę wpływu cyklu dobowego na przebieg nieswoistych chorób zapalnych jelit, które stanowią istotny problem terapeutyczny, ze względu na skomplikowaną, wieloczynnikową etiopatogenezę, utrudniającą opracowanie skutecznych metod terapeutycznych. .

Ból jest nieodłącznym objawem chorób jelit, a jego intensywność decyduje o jakości życia pacjenta. Sygnały bólowe stymulują część pobudzającą układu siatkowatego w śródmózgowiu, uniemożliwiając zaśnięcie i w ten sposób rozprzegają mechanizmy zegara biologicznego rytmu sen – czuwanie. Powoduje to niewątpliwy dyskomfort u pacjenta. Doktorantka poszła dalej w swoich badaniach klinicznych: postanowiła odpowiedzieć na pytanie czy zaburzenia snu, oprócz psychicznego dyskomfortu, mogą mieć wpływ na zjawiska immunologiczne i w ten sposób zaostrzać przebieg chorób autoimmunologicznych, jakim są nieswoiste choroby zapalne jelit i czy leczenie zaburzeń snu będzie poprawiało wyniki prowadzonych procedur terapeutycznych.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek. Aleksandry Sobolewskiej - Włodarczyk pt. „Związek zaburzeń cyklu dobowego z przebiegiem z nieswoistych chorób zapalnych jelit” składa się z 4 prac:

1. **Sobolewska-Włodarczyk A**, Włodarczyk M, Szemraj J, Stec-Michalska K, Fichna J, Wiśniewska-Jarosińska M.: *Circadian rhythm abnormalities - Association with the*

course of inflammatory bowel disease. Pharmacol Rep. 2016 Aug;68(4):847-51. doi: 10.1016/j.pharep. 2016.04.007. IF=2,251

2. **Sobolewska-Włodarczyk A**, Włodarczyk M, Banasik J, Gąsiorowska A, Wiśniewska-Jarosińska M, Fichna J: *Sleep disturbance and disease activity in adult patients with inflammatory bowel diseases*. J Physiol Pharmacol. 2018 Jun;69(3). doi: 10.26402/jpp.2018.3.09. IF= 2,478
3. **Sobolewska-Włodarczyk A**, Włodarczyk M, Talar M, Wiśniewska-Jarosińska M, Gąsiorowska A, Fichna J.: *The association of the quality of sleep with proinflammatory cytokine profile in inflammatory bowel disease patients*. Pharmacol Rep.2021 doi:10.1007/s43440-021-00333-0 IF= 3,027
4. **Sobolewska-Włodarczyk A**, Włodarczyk M, Zielińska A, Siwiński P, Wiśniewska-Jarosińska M, Gąsiorowska A, Fichna J.: *Circadian rhythm abnormalities in patients with inflammatory bowel disease -association with adipokine profile*. Scand J Gastroenterol. 2020 Mar;55(3):294-300 doi: 10.1080/00365521.2020.1737727 IF=2,130

Na podkreślenie zasługuje tu fakt, że wszystkie artykuły zostały opublikowane w czasopismach posiadających wysoki Impact Factor: pomiędzy 2,130 a 3,027 oraz to, że we wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszą autorką. Sumaryczna wartość Impact Factor wynosi 9,886, jak na prace doktorskie jest to wynik bardzo wysoki.

Za cel pracy doktorskiej, Doktorantka postawiła sobie potwierdzenie hipotezy mówiącej o związku zaburzeń równowagi immunologicznej z rytmem dobowym oraz próba wyjaśnienia znaczenia klinicznego tych zaburzeń w przebiegu nieswoistych chorób zapalnych jelit. W dalszej perspektywie badania miały pozwolić odpowiedzieć na pytanie, czy leczenie zaburzeń snu powinno stać się nowym celem w terapii nieswoistych chorób zapalnych jelit. Zagadnienie to jest interesujące, zwłaszcza w aspekcie określenia wpływu zaburzeń snu na produkcję prozapalnych cytokin, dając mierzalny wyraz tej zależności z potencjalnymi możliwościami obiektywnego określenia wpływu terapii zaburzeń snu na parametry stanu immunologicznego pacjenta w przebiegu badanych patologii jelit.

W pierwszej publikacji, o charakterze pogładowym, omówiono mechanizmy wewnątrzkomórkowego działania zegara biologicznego, będące rozwinięciem fundamentalnych prac wspomnianych wcześniej Noblistów z 2017 roku w odniesieniu do organizmu ludzkiego i ich zaangażowanie w fazy snu fizjologicznego. Doktorantka dokonała

także przeglądu wpływu zaburzeń zegara biologicznego na schorzenia układu trawiennego, jak rak jelita grubego. Ponadto przeprowadziła analizę związku zaburzeń rytmu dobowego z procesami immunologicznymi, zwłaszcza skrócenia poszczególnych faz snu w przebiegu infekcji.

W drugiej publikacji Doktorantka analizuje wyniki ankietowego badania klinicznego dotyczącego jakości snu w powiązaniu ze stanem ogólnym pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit. Badania wykazały że zaburzenia snu występowały znacznie częściej u pacjentów z zaostrzeniem choroby niż w remisji klinicznej choroby podstawowej, w ten sposób, iż zaostrzenie choroby było poprzedzone zaburzeniami snu, co sugerowało związek przyczynowo – skutkowy z zaburzeniami snu jako czynnikiem sprawczym. Aby uchwycić związek metaboliczny obu zjawisk, Doktorantka zbadała poziom białka C-reaktywnego, jako wskaźnika stanu zapalnego, stwierdzając korelację pomiędzy podwyższeniem jego stężenia a zaburzeniami snu. Na podstawie przeprowadzonej analizy postawiono hipotezę, że zaburzenia snu mogą być czynnikiem ryzyka zaostrzenia w przebiegu choroby Leśniowskiego – Crohna czy wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Na podkreślenie zasługuje fakt znalezienia pierwszego czynnika metabolicznego łączącego zaburzenia snu z chorobami autoimmunologicznymi.

W trzecim artykule Doktorantka rozszerzyła profil badań związków pomiędzy snem a procesami immunologicznymi na kolejne mediatory stanu zapalnego, jakimi są interleukiny IL-6, IL-17, IL-23. Doktorantka wykazuje zwiększenie poziomów wymienionych cytokin u pacjentów z zaburzeniami snu, a także związek tych zjawisk z zaostrzeniem przebiegu choroby. Doktorantka zauważyła tu związek między zaburzeniami rytmu okołodobowego a prozapalnym profilem cytokinowym, który może wskazywać na predyspozycje do rozwoju objawów zaostrzenia choroby podstawowej. Wyniki tych obserwacji jeszcze silniej wiążą zaburzenia snu z procesami immunologicznymi.

W czwartej publikacji podjęty został aspekt relacji poziomu wybranych adipokin, jak adiponektyna, leptyna i rezystyna, z zaburzeniami snu i stanem klinicznym pacjentów z nieswoistymi zapalnymi chorobami jelit. Przeprowadzone badania kliniczne wykazały, u pacjentów z zaburzeniami snu, zwiększony poziom rezystyny i obniżony poziom leptyny i adiponektyny, w surowicy krwi. Doktorantka wyciąga wniosek, iż istnieje związek między zaburzeniami rytmu okołodobowego a specyficznym profilem adipokin. Może on być uznany

za czynnik ryzyka rozwoju zaostrzenia choroby podstawowej, a co za tym idzie zmian zapalnych u pacjentów z chorobami jelit.

We wnioskach, Doktorantka stwierdza, że u pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit występują zaburzenia cyklu dobowego, związane są ze zmienionym profilem immunologicznym cytokin oraz zaburzenia w produkcji adipokin tkanki tłuszczowej, które mogą mieć wpływ na przebieg choroby podstawowej. Wobec tego, terapia zaburzeń cyklu okołodobowego może pełnić pomocniczą rolę w terapii tych schorzeń.

Oceniana praca doktorska podejmuje istotny problem kliniczny jakim są nieswoiste zapalne choroby jelit, jak choroba Leśniowskiego – Crohna czy wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Szczególnie interesującym wydaje się dostarczenie mierzalnych dowodów na wpływ snu na przebieg badanych chorób. Korzystny wpływ snu na proces zdrowienia znany jest w medycynie od wieków, jednakże zazwyczaj rozważania koncentrują się na aspektach psychologicznych zaburzeń snu i wpływie na stan ogólny pacjenta. Doktorantka natomiast dostarcza dowodów na bezpośredni wpływ snu na parametry biochemiczne i immunologiczne, zgodnie z regułami medycyny opartej na faktach. Oceniana praca wpisuje się także w szerszy kontekst badań nad rolą zegarów biologicznych w funkcjonowaniu układu trawiennego, szeroko prezentowanych na Międzynarodowym Sympozjum „Patofizjologiczne i kliniczne aspekty zegarów biologicznych”, które odbyło się w 2011 roku w Krakowie, a pojawiających się już na III Konferencji Adeptów Fizjologii w 2005 roku w Łodzi.

Podsumowując, należy stwierdzić, że przedstawione wyniki mogą być inspirujące dla opracowania nowych skuteczniejszych metod terapeutycznych. Praca zawiera zwięzłe i przejrzyste omówienie artykułów na nią się składających, a także oświadczenia zgody wszystkich współautorów artykułów i zgodę Komisji Bioetycznej na przeprowadzenia badań klinicznych.

Praca ta zawiera pewną liczbę drobnych błędów redakcyjnych:

Str. 11: drobny błąd literowy – jest: „Wyniki badań prowadzonych przez Preussai i wsp.”; powinno być: „Wyniki badań prowadzonych przez Preussa i wsp.”

Str. 18 – w 3 publikacji stanowiącej podstawę rozprawy doktorskiej brak rocznika *Pharmacological Reports*, w którym praca została opublikowana; powinno być: „*Pharmacol Rep* 2021...” Być może ten brak wiąże się z faktem, iż artykuł ten został opublikowany online dopiero 25 października 2021 roku. Również widoczny jest na tej stronie nietypowy

sposób cytowania publikacji: najpierw tytuł a potem autorzy, chociaż zazwyczaj najpierw wymienia się autorów a następnie tytuł.

Str. 53 – 54 („Literatura”): Zwraca tu uwagę uproszczony sposób cytowania bez podawania tytułów cytowanych artykułów, Ten sposób cytowania jest dopuszczalny, ale zazwyczaj stosowany w książkach lub podręcznikach, gdzie ilość cytowanych pozycji jest duża, a w przypadku podręcznika zazwyczaj nie stanowi dla studentów źródła dla poszerzania wiedzy. W przypadku Doktorantki taki sposób cytowania nie ma uzasadnienia, gdyż ilość cytowanych publikacji jest stosunkowo niewielka (40 pozycji), a bardziej przejrzyste byłoby cytowanie publikacji z tytułami, gdyż umożliwiałoby to łatwiejszą orientację w użytych materiałach źródłowych, a czytelnikami rozpraw doktorskich, oprócz recenzentów, często bywają osoby zainteresowane specyficznym danym tematem i mogące szukać w piśmiennictwie wskazówek dotyczących poszerzenia wiedzy w tym temacie.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny **praca doktorska lek. Aleksandry Sobolewskiej – Włodarczyk spełnia wszystkie wymagania stawiane przez procedurę przewodu doktorskiego i zwracam się do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. Aleksandry Sobolewskiej – Włodarczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Ponieważ rozprawa doktorska posiada wysokie walory naukowe, a także ze względu na jej ważny wkład do medycyny praktycznej oraz wysoki sumaryczny Impact Factor czasopism, w których wyniki zostały opublikowane, składam wniosek o jej wyróżnienie.

Katedra Fizjologii UJ CM
Zakład Fizjologii Doświadczalnej

prof. dr hab. n. med. Sławomir Kwiecień