



dr hab., prof. UW. Wioleta Umławska

Wrocław, 20.10.2020

Katedra Biologii Człowieka

Uniwersytet Wrocławski

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Aleksandry Anny John

pt. „*Stan biologiczny i prawdopodobieństwo przeżycia osób dorosłych chorych na mukowiscydozę*”

Podstawa opracowania recenzji

Podstawą opracowania recenzji jest pismo Dziekana Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Pani dr. hab., prof. UAM Beaty Messyasz z dnia 23 lutego 2018 r. w sprawie powierzenia mi obowiązków recenzenta rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Anny John, ubiegającej się o stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.

Ogólna charakterystyka pracy

Praca doktorska mgr Aleksandry Anny John została wykonana w Instytucie Biologii i Ewolucji Człowieka Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Promotorem pracy jest dr hab., prof. UAM Anita Szwed.

Układ pracy jest zgodny z powszechnie przyjętymi zasadami redagowania pracy naukowej w naukach biologicznych. Rozprawa obejmuje 137 stron maszynopisu, zaprezentowano w nim 7 tabel oraz 78 rycin. Całość opracowania składa się z 5 rozdziałów ułożonych w logiczny sposób. Wyodrębnione rozdziały to: **Wstęp, Teoretyczne przesłanki pracy, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusja oraz Podsumowanie i Wnioski**. Ponadto praca została uzupełniona o **Streszczenie opracowania w języku polskim i angielskim, Wykaz stosowanych skrótów oraz Piśmiennictwo**. Projekt badawczy stanowiący podstawę

recenzowanej pracy uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (decyzja nr 51/17).

Szczegółowa ocena dysertacji

Mukowiscydoza (ang. *Cystic fibrosis* – CF) zwana zwłóknieniem torbielowatym jest przewlekłą, nieuleczalną chorobą uwarunkowaną genetycznie o bardzo zróżnicowanym przebiegu. Szacowana liczba chorych na mukowiscydozę w Polsce wynosi obecnie 2400 osób, z czego nieco ponad 1/3 z tej liczby stanowią osoby powyżej 18. roku życia. O długości i jakości życia w przebiegu tej choroby decydują przede wszystkim patologiczne zmiany w układzie oddechowym oraz dynamika zmian oskrzelowo-płucnych. Długość życia chorych na mukowiscydozę systematycznie się wydłuża. Z najnowszego raportu opracowanego pod auspicjami Polskiego Towarzystwa Mukowiscydozy w 2019 roku pt. „*Opieka nad chorymi na mukowiscydozę w Polsce. Stan obecny i rekomendacje poprawy*” wynika, że mediana wieku w momencie zgonu chorych w Polsce wzrosła i wynosi aktualnie 24 lata, jest jednak o ponad 10 lat niższa od obserwowanej w krajach z dobrze zorganizowanym systemem opieki zdrowotnej.

Podstawą diagnostyki mukowiscydozy w Polsce są prowadzone od 2009 roku powszechne badania przesiewowe u noworodków, pozwalające na rozpoznanie klinicznych objawów choroby we wczesnym dzieciństwie i odpowiednio wczesne wdrożenie działań terapeutycznych. Polska należy obecnie do krajów efektywnie diagnozujących mukowiscydozę, jednak występują trudności z zapewnieniem chorym kompleksowej opieki, zgodnej ze standardami europejskimi. Jednym z poważniejszych problemów systemu opieki zdrowotnej nad chorymi na mukowiscydozę w naszym kraju jest niedostateczna liczba wyspecjalizowanych ośrodków zajmujących się leczeniem osób dorosłych. Według wspomnianego już raportu, jedynie trzy ośrodki w Polsce, w tym również pediatryczne, obejmują opieką medyczną większą, bo kilkudziesięcioosobową liczbę dorosłych pacjentów.

Międzyośrodkowe „rozproszenie” chorych nie sprzyja kompleksowym badaniom stanu biologicznego osób dorosłych z mukowiscydozą, co przekłada się na niemal zupełny brak publikacji z tego zakresu. Temat podjęty przez mgr Aleksandrę John uważam zatem za aktualny i bardzo potrzebny, gdyż opracowania dotyczące przebiegu choroby dotyczą najczęściej dzieci i młodzieży, leczonych w kilku największych ośrodkach pediatrycznych w naszym kraju.

Aktualny stan wiedzy na temat czynników mogących potencjalnie modyfikować stan biologiczny chorego w przebiegu mukowiscydozy, Doktorantka przedstawiła w rozdziale pt. *Teoretyczne przesłanki pracy*. W interesujący sposób omówiono w nim m.in. najnowsze doniesienia na temat genetycznego podłoża choroby, związku kolonizacji układu oddechowego przez *Pseudomonas aeruginosa* z dynamiką zmian oskrzelowo-płucnych oraz patogenezy upośledzenia stanu odżywienia.

Krytyczna synteza najnowszych wyników badań z tego zakresu pozwoliła mgr Aleksandrze John na sformułowanie sześciu hipotez badawczych oraz czterech głównych celów dysertacji. Zadania badawcze zostały przedstawione precyzyjnie i nie budzą żadnych wątpliwości. Doktorantka podjęła próbę określenia wzajemnych zależności pomiędzy typem mutacji genu *CFTR*, stanem układu oddechowego, kolonizacją płuc przez *P. aeruginosa* oraz stanem odżywienia osób dorosłych chorych na mukowiscydozę. W mojej ocenie oryginalną część założeń badawczych w recenzowanej pracy stanowi długofalowa analiza parametrów stanu biologicznego, pozwalająca na wyznaczenie krzywych indywidualnych w przebiegu choroby oraz na określenie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od typu mutacji, stanu czynnościowego płuc, ich kolonizacji przez patogen a także stanu odżywienia chorego.

Badaniami objęto 115 osób w wieku od 19 do 51 lat z rozpoznaną mukowiscydozą, leczonych w Katedrze i Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 2010-2018. Do projektu zakwalifikowano chorych z rozpoznaną w badaniach genetycznych mutacją genu *CFTR*, obecną na co najmniej jednym chromosomie, bez zaostżeń choroby oskrzelowo-płucnej w ciągu miesiąca poprzedzającego badanie. Dobór próby badawczej oraz parametrów oceniających kondycję biologiczną chorych uważam za właściwy i pozwalający w pełni na zrealizowanie zaplanowanych zamierzeń badawczych. Stan czynnościowy układu oddechowego chorych oceniono w oparciu o wartości natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej FEV₁%, natomiast stan odżywienia oceniono na podstawie wartości wskaźnika masy ciała BMI. Każdy badany został zakwalifikowany do jednej z czterech grup o określonym typie mutacji genu *CFTR*, różniącej się stopniem uszkodzenia białka CFTR i tym samym nasileniem objawów klinicznych. Wyniki wykonanych analiz mikrobiologicznych pozwoliły na ustalenie obecności *P. aeruginosa* w układzie oddechowym badanego lub braku kolonizacji płuc przez wspomniany patogen. Nowatorskim i wnoszącym interesujące ustalenia elementem metodycznym rozprawy było wyodrębnienie wśród

pacjentów z potwierdzoną kolonizacją płuc dwóch grup chorych: z wrażliwymi na antybiotyki szczepami *P. aeruginosa* oraz opornym na eradykację patogenem.

Analizę danych przeprowadzono dwuetapowo, z wykorzystaniem prawidłowo dobranych testów statystycznych, w których stosowaniu Kandydatka wykazała dużą biegłość. W pierwszej części rozdziału *Wyniki*, dla wszystkich badanych ustalono kierunek wzajemnych zależności pomiędzy parametrami określającymi kondycję biologiczną a wybranymi czynnikami mogącymi ją potencjalnie modyfikować. Uzyskane rezultaty wskazały m.in. na pogorszenie stanu czynnościowego płuc wraz z rozwojem infekcji *P. aeruginosa* oraz pogłębieniem upośledzenia stanu odżywienia. Najcięższy przebieg choroby odnotowano u pacjentów z ciężkimi typami mutacji genu *CFTR*, który dodatkowo nasilała kolonizacja układu oddechowego przez szczepy *P. aeruginosa* oporne na farmakoterapię.

W drugiej części rozdziału *Wyniki* Autorka rozprawy skupiła się na analizie danych longitudinalnych, uzyskanych z archiwum medycznego dla 61 spośród wszystkich badanych (40 osób żyjących i 21 osób zmarłych). Tę część wykonanych analiz uważam za szczególnie interesującą i wnoszącą wiele nowych informacji na temat specyfiki przebiegu mukowiscydozy u osób dorosłych. Wykazano w nich, że kondycja biologiczna chorych jest ściśle związana z typem mutacji genu *CFTR* i kolonizacją układu oddechowego, zwłaszcza przez oporne na eradykację szczepy *P. aeruginosa*. Najmniejsze prawdopodobieństwo przeżycia dotyczyło pacjentów z silnym upośledzeniem funkcji płuc. Wykreślone krzywe indywidualne, zwłaszcza u pacjentów żyjących, wskazały z kolei na zaskakująco dużą zmienność osobniczą przebiegu choroby. Kandydatka wykazała niezbicie, że mukowiscydoza u każdego chorego może mieć inny przebieg zarówno pod względem objawów klinicznych, jak ich nasilenia. Mgr Aleksandra John podkreśliła w swojej pracy, że duża labilność w obrazie klinicznym choroby może być związana m.in. z wpływem innych czynników modyfikujących przebieg mukowiscydozy, nie uwzględnionych w przeprowadzonych analizach.

I właśnie z wpływem owych „innych czynników” na przebieg mukowiscydozy związana jest moja uwaga, a właściwie sugestia, jedyna w recenzowanej rozprawie. Chorzy byli osobami w wieku dorosłym, a więc nie podlegali jeszcze powszechnemu badaniu przesiewowemu noworodków w kierunku mukowiscydozy. Autorka pracy nie podaje jednak, na jakim etapie rozwoju osobniczego zdiagnozowano u nich mukowiscydozę. Niewykluczone, że uwzględnienie w analizach dodatkowego czynnika, jakim jest „wiek

rozpoznania choroby” (i tym samym wdrożenie odpowiedniego leczenia), wniósłby nowe spostrzeżenia w długofalowych modelach przebiegu choroby. Swoje przypuszczenie formułuję w oparciu o wyniki przeprowadzonych badań, które wykazały istotną rolę tego czynnika w procesie wzrastania oraz kształtowania proporcji ciała u dzieci i młodzieży chorych na mukowiscydozę.

Uzyskane rezultaty badań własnych mgr Aleksandra John umiejętnie skonfrontowała z wynikami innych autorów zajmujących się podobną tematyką badawczą. *Dyskusja* wyników dysertacji została przeprowadzona ciekawie i wszechstronnie. Cytowane przez Autorkę rozprawy piśmiennictwo zawiera 104 pozycji. Są to prace opublikowane głównie w czasopismach o tematyce medycznej, starannie dobrane do tematu rozprawy oraz aktualne w sensie lat publikacji. Konkluzje, sformułowane w rozdziale *Podsumowanie i Wnioski* są klarowne i dobrze korespondują z celami dysertacji.

Pod względem edytorskim dysertacja została przygotowana starannie i nie budzi zastrzeżeń. Praca została dobrze zredagowana, nie dopatrzyłam się istotnych uchybień językowych i stylistycznych. Zamieszczone w opracowaniu tablice i ryciny są estetyczne i opatrzone stosownymi podpisami.

Warto podkreślić, że projekt został starannie zaplanowany, a jego wykonanie wymagało dużej wiedzy oraz nawiązania interdyscyplinarnej współpracy. Otrzymane wyniki mają wymiar nie tylko poznawczy, ale również praktyczny. Rezultaty przeprowadzonych badań mają szansę przyczynić się efektywniejszej opieki zdrowotnej nad chorymi na mukowiscydozę. Gorąco zachęcam również Autorkę rozprawy do publikacji uzyskanych wyników, które z pewnością zainteresują szerokie grono specjalistów, sprawujących opiekę nad pacjentami z mukowiscydozą.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedłożona mi do oceny praca Pani mgr Aleksandry John jest samodzielnym rozwiązaniem problemu badawczego i stanowi istotny wkład w postęp wiedzy. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku 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, wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Aleksandry John do dalszych etapów przewodu doktorskiego.