

Dr hab. n. med. Justyna D. Kowalska

Klinika Chorób Zakaźnych dla Dorosłych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

ul. Wolska 37, 01-201 Warszawa

Warszawa, 19.09.2016

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej na stopień doktora nauk medycznych pani magister Moniki Ziach-Terleckiej pt. „Zmienność regulatorowego genu *nef* ludzkiego wirusa upośledzenia odporności typu 1 występującego na terenie Polski południowej”.

Promotorem pracy doktorskiej jest pan dr hab. n. med. Tomasz J. Wąsik, prof. nadzw. SUM

Promotorem pomocniczym jest dr n.med. Joanna Smoleń-Dzirba

Ludzki wirus niedoboru odporności (HIV) został zidentyfikowany i opisany ponad 30 lat temu i jest jednym z najlepiej poznanych wirusów w medycynie. Jednak jego duża zmienność genetyczna powoduje, że do tej pory nie jesteśmy w stanie zrozumieć wielu procesów do jakich dochodzi w organizmie zakażonego człowieka. Uważa się obecnie, że białko Nef jest jednym z istotnych czynników decydujących o przewlekłym charakterze zakażenia HIV, a to właśnie latentny charakter infekcji HIV stanowi podstawowe wyzwanie w terapii i przyczynę braku efektywnego leczenia eradykacyjnego. Dlatego też dobór tematu rozprawy doktorskiej pani magister Moniki Ziach-Terleckiej uważam za bardzo istotny i nadal aktualny w obranej dziedzinie nauki.

We wstępie autorka pracy przedstawia szczegółowy opis struktury i funkcji genu *nef* oraz białka Nef, będącego jego produktem. Następnie podejmuje wnikliwy i systematyczny

przegląd opisanych w literaturze naukowej biologicznych efektów tego wielofunkcyjnego białka oraz wpływu zmienności genetycznej w obrębie genu *nef* na kliniczny przebieg zakażenia. Autorka właściwie cytuje dotychczas przeprowadzone badania naukowe w tej dziedzinie, szczególnie koncentrując się na doniesieniach z ostatnich dziesięciu lat. Czyny to z dokonanego we wstępie przeglądu piśmiennictwa wartościowy materiał publikacyjny. Ponadto autorka podkreśla istotność podjęcia dalszych badań nad zmiennością genu *nef* na poziomie mniejszych populacji, zwłaszcza regionalnych.

Tym samym autorka w pełni uzasadnia przedstawione w kolejnej części pracy cele:

1. Ilościową ocenę różnic struktury I-rzędowej w obrębie genu *nef* wariantów HIV-1
2. Porównanie wariantów genetycznych HIV-1 i zmienności wirusa pomiędzy osobami z wczesną fazą zakażenia (< 6 miesięcy) a osobami z zakażeniem długotrwałym
3. Porównanie wariantów genetycznych HIV-1 i zmienności wirusa w zależności od drogi transmisji
4. Analiza zróżnicowania genu *nef* HIV-1 w badanej populacji w porównaniu do zróżnicowania wirusa w innych rejonach geograficznych

Kolejna część pracy określa jej **metodykę**. Praca oparta jest na badaniu 86 próbek krwi uzyskanych z ośrodków specjalistycznych zajmujących się opieką nad pacjentami z HIV w Chorzowie, Krakowie, Łodzi i Wrocławiu. Metody pracy zostały przedstawione w sposób szczegółowy i całkowicie wystarczający. Także dobór metod, zarówno laboratoryjnych, jak i analitycznych nie budzi zastrzeżeń. Do opisu sekwencji w genotypowaniu HIV-1 oraz analiz filogenetycznych autorka posłużyła się bazami Narodowego Centrum Informacji Biotechnologicznej USA, zgodnie z obowiązującymi standardami. Do tej części pracy mam dwie uwagi. Pierwsza uwaga dotyczy tego, że opis charakterystyki grupy pacjentów włączonych do badania oraz Tabela I powinny znaleźć się w rozdziale wyników. Druga uwaga dotyczy konieczności zacytowania pracy opisującej metodykę badania CASCADE w pierwszym akapicie rozdziału „Materiały i metody”.

Wyniki przedstawione są w sposób klarowny, odpowiadający przyjętej wcześniej strukturze pracy oraz jej celom. Autorka właściwie dobrała formę prezentacji wyników, umieszczając je zarówno w tekście, jak i w 14 rycinach i trzech tabelach. Zwraca uwagę wyjątkowa dbałość z jaką autorka pracy opisuje dobór metod do analizy wariantu genetycznego HIV-1 oraz zasady konstruowania drzewa filogenetycznego. Świadczy to o dobrym przygotowaniu

merytorycznym i praktycznym autorki do przeprowadzenia zaplanowanych badań oraz wysokim poziomie profesjonalizmu.

W dalszej części wyników autorka porównuje średnie liczby różnic nukleotydowych, średni dystans nukleotydowy oraz średnią częstość mutacji synonimicznych w obrębie analizowanych sekwencji genu nef pomiędzy grupą osób zakażonych przez kontakty homoseksualny (MSM) a heteroseksualny (HET).

Chciałabym zwrócić uwagę na nieścisłość przy zastosowaniu terminów: MSM (mężczyźni uprawiający seks z mężczyznami z ang. *men who have sex with men*) oraz mężczyzna homoseksualny. Podczas gdy termin 'mężczyzna homoseksualny' określa mężczyznę utrzymującego kontakty seksualne jedynie z mężczyznami, termin 'MSM' obejmuje mężczyzn utrzymujących jednocześnie kontakty homo- i heteroseksualne. Tak więc do grupy MSM włącza się także osoby, które nie identyfikują się jednoznacznie z określonym wzorcem zachowań seksualnych, co w dużej mierze stanowi o jej odmienności, zarówno psychospołecznej, jak i epidemiologicznej. Tabela I wskazuje, że autorka pracy przyjęła podział na trzy grupy: hetero-, homo- i biseksualną, chociaż niewłaściwie użyto terminu MSM. Z analiz przedstawionych w dalszej części nie wynika jasno, którą grupę stanowią osoby opisane jako MSM. Dlatego autorka pracy powinna określić dokładnie, którą z powyższych definicji przyjmuje, opisać to w rozdziale 'Materiały i metody' oraz stosować skrót MSM lub mężczyźni homoseksualni konsekwentnie w swojej pracy.

Interesującym wynikiem pracy jest wykazanie, że klaster pokrewieństwa łączył próbki uzyskane od mężczyzn o różnej drodze zakażenia (hetero-, homoseksualnej oraz nieznaney). Oznacza to, że mężczyźni podejmujący kontakty seksualne z mężczyznami nie zawsze identyfikują się jako osoby homoseksualne, a czasami unikają jakiegokolwiek zaszeregowania zachowań seksualnych. Autorka pracy wyraźnie wskazuje na „krążenie” wirusa pomiędzy osobami o różnej drodze zakażenia u osób z wczesnym zakażeniem HIV. Taki wzorec zachowań, a mianowicie rosnący udział mężczyzn z grupy MSM w populacji osób z nowo wykrytym zakażeniem HIV, obserwowany jest w Polsce od kilku lat. Spójność wyników pracy z obserwowanymi trendami epidemiologicznymi czyni z niej wyjątkowo wiarygodny materiał badawczy.

Przedstawione przez autorkę wyniki wskazują, że w analizowanym regionie transmisja nowych szczepów HIV do populacji badanej odbyła się głównie przez kontakty

heteroseksualne, co także obserwowano w północnych rejonach kraju. W oparciu o badany materiał można także przypuszczać, że transmisja drogą kontaktów homoseksualnych ma charakter bardziej lokalny i wynika z przekazywania zakażenia w małych populacjach.

Analiza filogenetyczna przeprowadzona w pracy opisująca rozprzestrzenianie się zakażenia w populacji badanej stanowi ważny materiał epidemiologiczny ukazując realne drogi transmisji, a tym samym wskazując obszary wymagające wzmocnienia działań profilaktycznych na danym terenie.

W dyskusji autorka podejmuje krytyczną ocenę wyników własnej pracy, jak na przykład brak innych niż B podtypów HIV-1 w badanej grupie. Odzworowuje to jednak dobrze specyfikę epidemii w Polsce do roku 2010, charakteryzującą się mniejszym zróżnicowaniem podtypów będącego skutkiem przekazywania zakażenia w lokalnych populacjach, a nie zawlekania spoza kraju. Dlatego też zgadzam się w pełni z postawionym na wstępie pracy wnioskiem, że analizy zmienności genetycznej prowadzone na lokalnych populacjach są szczególnie istotne. Praca pani magister Moniki Ziach-Terleckiej jest jednym z nielicznych opracowań tego typu w Polsce.

Autorka pracy interpretuje wyniki w sposób obiektywny, co jest właściwe, chociaż nasuwa się pytanie jaka jest w jej opinii dalsza perspektywa dla wykonanej pracy badawczej?

Wnioski pracy zostały poprawnie sformułowane i odzwierciedlają przedstawione wcześniej wyniki.

Podsumowując praca pani magister Moniki Ziach-Terleckiej jest dziełem oryginalnym, podejmuje zagadnienia ważne dla zdrowia publicznego oraz wnosi nowe wartości do dziedziny nauk medycznych. W mojej ocenie praca odpowiada wymogom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk medycznych.

Tym samym wnioskuję do Rady Naukowej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o dopuszczenie pani magister Moniki Ziach-Terleckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Namowie dn 19 09 2016

