



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. Oliwii Segiet pt. „*Rola wybranych interleukin w niewydolności rozkurczowej serca*” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Ewy Nawalnej-Kozielskiej, jako promotora, oraz dr n. med. Ewy Romuk, jako promotora pomocniczego

Przedstawiona mi do recenzji praca dotyczy związku między stężeniem wybranych interleukin o charakterze pro- i antyzapalnym a niewydolnością skurczową serca oraz towarzyszącym jej zaburzeniom, takim jak przewlekła choroba nerek, cukrzyca, dyslipidemia, czy migotanie przedsionków. Trudno wyobrazić sobie bardziej aktualny i społecznie ważny temat, biorąc pod uwagę fakt, że choroby sercowo-naczyniowe stanowią główną przyczynę zgonów na świecie, wyprzedzając nawet choroby nowotworowe, oraz że prognozowany jest wzrost liczby zachorowań wynikający z rosnących trendów zachorowalności na cukrzycę typu drugiego i otyłość, będących bezpośrednimi lub pośrednimi czynnikami ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Jak wspomniała Doktorantka we wstępie do swojej rozprawy, niewydolność serca nie jest już rozpatrywana wyłącznie w aspekcie mechanicznym - uszkodzenia serca jako pompy. Obecny stan wiedzy pozwala stwierdzić, że patogeneza niewydolności serca jest wieloczynnikowa, a ważną rolę odgrywa w niej stan zapalny. Pamiętać jednak należy, że stan zapalny może być zarówno przyczyną niewydolności serca, jak i jej skutkiem, prowadzącym do zaostrzenia choroby i jej manifestacji w narządach obwodowych. To na stanie zapalnym, w poszukiwaniu nowych opcji terapeutycznych, skupia się w ostatnich latach uwaga naukowców. Jednakże, ze względu na złożoność procesów indukcji i wygaszania stanu zapalnego oraz różnorodność typów stanu zapalnego towarzyszących niewydolności serca, podkreśla się konieczność dokładnego zrozumienia indywidualnych mechanizmów zapalnych, celem wypracowania skutecznych terapii celowanych będących podstawą medycyny spersonalizowanej. Praca doktorska lek. Oliwii Segiet świetnie się w ten nurt wpisuje. Co więcej, Doktorantka skupia swoją uwagę na interleukinach stosunkowo niedawno odkrytych, o których aktywności biologicznej i znaczeniu klinicznym wciąż niewiele wiadomo, a nieliczne doniesienia są często sprzeczne. Tym samym, każde badanie ich dotyczące stanowi istotny wkład w naukę, również w obszarze nauk podstawowych, co stanowi dodatkowy atut pracy i przesądza o jej oryginalności.

Praca lek. Oliwii Segiet ma zwarty układ, typowy dla rozprawy doktorskiej i zawiera 67 stron maszynopisu, w tym 3 tabele i 32 wykresy. Doktorantka cytuje 96 pozycji piśmiennictwa, w większości (66%) z ostatniej dekady. Pracę poprzedza spis treści i poręczny wykaz stosowanych skrótów, uzupełniają wykazy tabel i wykresów, a wieńczy streszczenie pracy w j. polskim i angielskim. W pracy zachowano właściwe proporcje pomiędzy poszczególnymi jej częściami. Za bardzo cenne uważam zamknięcie przez Doktorantkę Dyskusji dodatkowym rozdziałem zawierającym informacje o ograniczeniach pracy. Świadczy to dojrzałości naukowej lek. Oliwii Segiet i, co rzadkie a wartościowe, o krytycznym podejściu do własnych badań.

We wstępie pracy, Doktorantka omawia epidemiologię i patogenezę niewydolności serca oraz przedstawia pokrótce szlaki sygnałowe i aktywność biologiczną badanych interleukin. Konstrukcja tej części pracy nie budzi zastrzeżeń, jest napisana bardzo przejrzyście, a piśmiennictwo zostało dobrane właściwie.

Krytycznego podejścia nieco zabrakło przy formułowaniu założeń i celów pracy. Badania obserwacyjne, a takie opisuje recenzowana rozprawa, pozwalają na stwierdzenie istnienia współzależności między badanymi parametrami a jednostką chorobową. Zastosowana w pracy metodyka nie pozwala natomiast ani na ustalenie związku przyczynowo-skutkowego, ani na określenie roli badanych molekuł w patogenezie choroby. Warto pamiętać o tym przy przygotowywaniu publikacji na podstawie rozprawy. Przestrzec również należy przed nadużywaniem słowa „ekspresja” w odniesieniu do analizy stężenia interleukin w surowicy/osoczu. Z uwagi na zdolność komórek do magazynowania wcześniej zsyntetyzowanych cytokin i ich uwalniania w odpowiedzi na bodziec, stężenie cytokin w surowicy/osoczu nie musi odzwierciedlać ich ekspresji, ani na poziomie mRNA, ani białka.

Rozdział „Materiał i Metody” zawiera opis grupy badanej z precyzyjnie określonymi kryteriami włączenia i wyłączenia, opis metod analitycznych i pomiarów EKG oraz analizy statystycznej. Opis metod analitycznych należałoby uzupełnić o informację, które interleukiny oznaczano w surowicy, a które w osoczu (od pacjentów pozyskano zarówno surowicę, jak i osocze), w ilu powtórzeniach technicznych wykonano oznaczenia oraz podać współczynniki zmienności wewnątrz- i między testami ELISA dla poszczególnych interleukin, co pozwoliłoby ocenić na ile znaczące są zaobserwowane w pracy różnice w ich stężeniu między badanymi grupami. Podrozdział dotyczący analizy statystycznej należałoby uzupełnić o informację o użytych testach *post-hoc*, czy zastosowano (jaką) korekcję dla porównań wielokrotnych, czy podane wartości *p* są dwu-, czy jednostronne oraz o rodzaju użytego oprogramowania. W opisie metod zabrakło informacji o rodzaju testów użytych do porównywania proporcji oraz wyznaczania współczynników korelacji, mimo że wyniki takich analiz zostały przedstawione w dalszej części pracy. Informacje te uwiarygodnią wyniki badań przedstawione w rozprawie.

Otrzymane wyniki Doktorantka przedstawiła w postaci 32 wykresów. Choć same wykresy są bardzo czytelne, to praca zyskałaby na przejrzystości, gdyby ryciny zawierały tylko jeden opis,

umieszczony pod rysunkiem i ograniczający się do tytułu ryciny wraz z legendą, a bez przytaczania w nim wyników i ich interpretacji. Z kolei konsekwentne podawanie dokładnych wartości prawdopodobieństwa p , zamiast $p <$ lub > 0.05 , pozwoliłoby czytającym pracę lepiej ocenić siłę badanych zależności. Praca zyskałabyby również na przejrzystości, gdyby podrozdział „Charakterystyka grup” wraz z Tabelami I-III, zawierającymi głównie charakterystykę pacjentów pod względem demograficznym i klinicznym, został w całości przeniesiony do „Materiałów i Metod”. Jedynie wartości stężeń badanych interelukin umieszczone w tych tabelach stanowią rzeczywisty wynik pracy, ale ponieważ zostały one jednocześnie przedstawione w postaci wykresów, powinny być usunięte z tabel, aby uniknąć niepotrzebnego powielania treści. O ile kohorta pacjentów, analizowana następnie pod kątem etiologii niewydolności serca, klasy NYHA, etc., jest dobrze zrównoważona pod względem rozkładu płci i średniej wieku, to nie można tego powiedzieć o grupie badanej i grupie osób zdrowych. Aby uwiarygodnić wyniki przedstawiające znamienne niższe stężenia IL-33, IL-34 i IL-37 u osób z niewydolnością serca niż u osób zdrowych, należałoby przeanalizować, czy istnieje związek między stężeniem tych interleukin a płcią i wiekiem i/lub przeprowadzić analizę kowariancji lub regresji wielorakiej, uwzględniających wiek i płeć jako zmienne towarzyszące. Praca zyskałaby również, gdyby w analizie związku między stężeniem interleukin a zaburzeniami towarzyszącymi niewydolności serca uwzględniono znamienne różnice w leczeniu, w szczególności odnośnie aspiryny, leku o działaniu antyzapalnym, o którym wiadomo, że może stymulować ekspresję IL-33. Rozdział przedstawiający wyniki zamyka paragraf poświęcony analizie korelacji między interleukinami i parametrami echokardiograficznymi, klinicznymi i biochemicznymi, który należałoby wyodrębnić. Również analizy korelacji powinny uwzględniać zróżnicowanie w sposobie leczenia.

W związanej Dyskusji Doktorantka sprawnie zestawia wyniki własne z danymi z piśmiennictwa, wykazując się dużą jego znajomością. Za bardzo cenne uważam, że lek. Oliwia Segiet podejmuje rzeczywistą dyskusję, starając się wskazywać na możliwe przyczyny rozbieżności między wynikami własnymi a publikowanymi przez innych autorów, co dodatkowo potwierdza dojrzałość naukową Doktorantki.

Pracę podsumowują 3 wnioski, które należałoby jednak uściślić lub zmodyfikować ponieważ:

- obniżenie stężenia IL-38 u chorych z niewydolnością serca w stosunku do osób zdrowych nie było znamienne statystycznie (wniosek 1);
- stwierdzenie, że stężenie interleukin jest zróżnicowane w zależności od etiologii niewydolności jest prawdziwe wyłącznie dla IL-34, a w przypadku przewlekłej choroby nerek można mówić jedynie o tendencji i wyłącznie w odniesieniu do IL-37 (wniosek 2).
- dla zaobserwowanej różnicy stężeń IL-34 u pacjentów z i bez przewlekłej choroby nerek wyznaczono wartość prawdopodobieństwa $p=0.828$, co zaprzecza istnieniu zależności (wniosek 3).

Autorka przedstawia swoje myśli w sposób interesujący, logiczny i płynny, swobodnie operując terminologią naukową. Zasugerowałabym tylko większą konsekwencję w stosowaniu raz wprowadzonych skrótów, szczególnie że cytokiny często bardziej znane są ze swoich nazw

skrótowych niż pełnych (np. MCP-1), oraz unikanie częściowego tłumaczenia terminów angielskich. Jako przykład (str.13): zwrot „kinazy IRAK 1/4" lub „kinazy 1/4 związane z receptorem dla IL-1" brzmią lepiej niż „kinaza IL-1R associated kinase (IRAK 1/4)". W pracy pojawiły się też, ale, co warte podkreślenia, nieliczne, skróty myślowe wymagające doprecyzowania (str.12: „terapia przeciwzapalna" i „terapia immunomodulacyjna" nie są terminami tożsamymi; str.14: IL-34 jako członek rodziny intereleukin – jakiej rodziny?; str.16: IL-38 jako antagonist receptor – jakiego?; str.17: sam fakt istnienia polimorfizmów w genie nie może wykazywać korelacji ze stężeniem CRP, istnienie konkretnego polimorfizmu już tak), niefortunne sformułowania (str.11: wirusowe zapalenie m.sercowego jako przykład antygeny; „proces zapalenia" czy „zapalenie" zamiast „procesy zapalne", „odpowiedź zapalna", „stan zapalny"), niewłaściwe tłumaczenia z j. angielskiego, np. „inflammatory bowel disease" przetłumaczono w pracy na „zapalne choroby jelit", kiedy obowiązujące w j. polskim jest określenie „nieswoiste zapalenia jelit" (str.15 i 16), czy zabrakło miejscami prawidłowego formatowania tekstu (zwroty „*in vitro*" i „*in vivo*" oraz nazwy mikroorganizmów powinny być wyróżnione kursywą).

Podsumowując swoją recenzję uważam, że praca jest oryginalna, dotyczy zagadnień aktualnych i istotnych z punktu widzenia społecznego, a jej wyniki są ważne, zarówno w obszarze nauk klinicznych, jak i podstawowych, i, po uwiarygodnieniu przez zaproponowane w recenzji analizy, warte popularyzacji. Pragnę podkreślić, że wymienione w recenzji uwagi i sugestie nie przekreślają mojego pozytywnego odbioru pracy.

Stwierdzam więc, że rozprawa doktorska lek. Oliwii Segiet pt. „Rola wybranych interleukin w niewydolności rozkurczowej serca", spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 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.). Dlatego wnioskuję do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, o przyjęcie tej pracy doktorskiej i dopuszczenie lek. Oliwii Segiet do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 13.08.2018

Z poważaniem

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I ZAKŁAD
BIOCHEMII LEKARSKIEJ
adiunkt

dr hab. Małgorzata Krzystek-Korpaczka