

II KLINIKA NEONATOLOGII

Dr hab. n.med. Tomasz Szczapa, Prof. UMP
GINEKOLOGICZNO-POŁOŻNICZY SZPITAL
KLINICZNY
60-535 POZNAŃ UL. POLNA 33
☎(48) 61-8419409, FAX (48) 61-8419650
e-mail:tszczapa@ump.edu.pl



II DEPARTMENT OF NEONATOLOGY

Tomasz Szczapa, MD PhD, Associate Professor
POZNAŃ UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES
60-535 POZNAŃ, UL. POLNA 33, POLAND
☎ (48)61-8419409, FAX: (48)61-8419650
e-mail:tszczapa@ump.edu.pl

Recenzja pracy w przewodzie doktorskim

Lek. Magdy Fraszczyk-Tousty

p.t.: „Ocena bariery jelitowej do 2 roku życia w oparciu o stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych“

Obserwacje z realizowanych w ostatnich latach badań dotyczących szeroko rozumianego zagadnienia mikrobioty jelitowej noworodków i niemowląt umożliwiają coraz lepsze rozumienie złożonych mechanizmów fizjologicznych i patofizjologicznych w tej grupie pacjentów. Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA) jako końcowe produkty metabolizmu bakterii jelitowych są potencjalnym, pośrednim, źródłem informacji o zmianach zachodzących w organizmie. Postulowany jest m.in. związek zmian stężenia SCFA z występowaniem nadciśnienia tętniczego oraz nadciśnienia indukowanego ciążą, a także cukrzycą (w tym ciążową) oraz ich wpływ na gospodarkę lipidową oraz ryzyko otyłości. Lek. Magda Fraszczyk-Tousty zajęła się interesującym wątkiem oceny bariery jelitowej w grupie dzieci do 2 roku życia w oparciu o stężenie SCFA.

Rozprawa doktorska Pani lek. Magdy Fraszczyk-Tousty rozpoczyna się od spisu treści, po którym znajduje się wykaz skrótów. W związku z tym, że istotna część skrótów pochodzi z języka angielskiego przydatne byłoby ich rozwinięcie w oryginalnym brzmieniu.

Następnie Autorka kontynuuje typowy układ pracy doktorskiej obejmujący wstęp, cel i założenia badania, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, piśmiennictwo, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spis tabel i wykresów. Wyniki przedstawiono w 23

tabelach i na 14 rycinach. Piśmiennictwo obejmuje 136 pozycji. Rozprawa jest dobrze przygotowana pod względem językowym, bez istotnych błędów stylistycznych czy ortograficznych. W niektórych miejscach można znaleźć drobne błędy pisowni wyrazów (np. na stronie 7 w tytule podrozdziału), niekiedy kilkakrotnie powtarzane (np. „*narmierny*” zamiast „*nadmierny*” w legendzie wykresów 11, 12 i 13) oraz sformułowania stosowane zazwyczaj w mowie potocznej np. „*widzimy, że [...]*” (np. na stronach 22, 23), „*z kolei [...]*”. W rozprawie znalazło się także dość nietypowe dla prac naukowych stwierdzenie „*nie podlega żadnej dyskusji, że [...]*” (str. 61). W legendzie niektórych rycin pozostawiono elementy w języku angielskim. Zarówno we wstępie i dyskusji Doktorantka płynnie przechodzi do kolejnych wątków, natomiast niepotrzebnie zmienia stosowany czas (z przeszłego na teraźniejszy i odwrotnie).

Stosunkowo krótki wstęp obejmuje 4 podrozdziały. We wprowadzeniu opisano rolę przewodu pokarmowego i choroby mające swoje źródła w okresie płodowym i okołoporodowym. Następnie w podrozdziale liczącym cztery zdania poruszono wątek mikrobioty jelitowej. Dalej, nieco więcej miejsca poświęcono kolonizacji przewodu pokarmowego. W ostatnim, czterostronicowym podrozdziale Doktorantka skupiła się na krótkołańcuchowych kwasach tłuszczowych. Lektura tej części pracy, pomimo niewielkiej objętości, wskazuje na dobrą znajomość zagadnienia Autorki. Brakuje jednak syntetycznego uzasadnienia podjęcia badań w wybranym obszarze. Ostatnie zdanie wstępu: „*wiedza na temat krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych u małych dzieci oraz ich roli w organizmie, a także możliwym wpływie na patogenezę chorób, nie jest jeszcze do końca znana*” pomijając styl i stosowaną w nim leksykę, wydaje się zdecydowanie zbyt ogólne jak na uzasadnienie wyboru tematu podjętego badania.

Cytowane piśmiennictwo obejmujące publikacje w języku polskim i angielskim; jest prawidłowo dobrane i przedstawione. Bardzo dobrze prezentują się cytowania polskich autorów, w tym Pani Promotor pracy, ponieważ wskazują na doświadczenie grupy, do której dołączyła Doktorantka oraz kontynuację obranych wcześniej kierunków badawczych. W wielu miejscach znajdują się natomiast niepotrzebne elementy w języku angielskim np.

„[Internet]”, „[cited (data)]” i linki PubMed lub DOI, zaimportowane prawdopodobnie z programu do zarządzania piśmiennictwem. Całość mogłaby być bardziej uporządkowana – uwagę zwraca np. pozycja 15, w której znajdują się jedynie inicjały autorów, czy pozycja 38 z nazwiskami opisanymi niepotrzebnie wielkimi literami.

Następny rozdział zawiera „*cele i założenia pracy*”. Luźno korespondujący z tytułem cel pracy opisano dość ogólnie jako „*ocenę wpływu wybranych czynników ze strony matki [...] i ze strony dziecka [...] na stan bariery jelitowej poprzez ocenę stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w stolcu dzieci do 2 roku życia*”. Więcej szczegółów znajdziemy w „*założeniach pracy*” obejmujących „*ryzyko zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej dzieci do drugiego roku życia*” co jak postuluje Autorka ma „*znajdować odzwierciedlenie w większym stężeniu i zmienionym profilu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych*” oraz zmianę stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych „*w zależności od wieku dziecka*”.

Rozdział „*Materiał i metodyka*” rozpoczyna się od informacji, że „*prezentowana praca rozprawa doktorska powstała jako kontynuacja badań nad barierą jelitową, które zostały przeprowadzone u 100 zdrowych, donoszonych noworodków urodzonych o czasie oraz u ich matek*”. Warto byłoby podać w tym miejscu więcej informacji o wspomnianym badaniu wraz z odpowiednim cytowaniem. Dalej przedstawiono charakterystykę badanej grupy, która w mojej opinii powinna być częścią kolejnego rozdziału „*Wyniki*”. Cennym uzupełnieniem tabeli 1 byłyby informacje o urodzeniowym tygodniu ciąży przedstawione analogicznie do masy ciała. Kolejnym opisanym elementem są kryteria włączenia i wyłączenia, które mogłyby zostać umieszczone wcześniej. Niektóre fragmenty wymagałyby doprecyzowania. Np. Autorka napisała, że „*Dzieci, które były zdrowe i nie przyjmowały aktualnie antybiotyku miały pobierane próbki stolca*”, czy to znaczy, że dopuszczano pobieranie próbek po zakończonej antybiotykoterapii? Jeśli tak, to po jakim czasie? W rozdziale można znaleźć również informację, że „*analizę stężenia SCFAs w kale noworodków wykonano jako ostatni etap badań nad oceną bariery jelitowej u noworodków*”, jednak nie podano jakie były pozostałe etapy tej oceny (!) Dlaczego? Porównanie stężeń SCFAs z innymi parametrami oceny bariery

jelitowej (odpowiednimi markerami np. zonuliną) byłoby bardzo wartościowym dopełnieniem przeprowadzonej analizy i idealnie korespondowałoby z tytułem rozprawy. W podrozdziale 3.2, który również lepiej pasowałoby do kolejnego rozdziału, zwraca uwagę wysoki odsetek antybiotykoterapii – warto byłoby w tym miejscu podać wskazania. Bardzo dokładnie opisano metodologię badań immunoenzymatycznych, choć niektóre określenia są niejasne dla osoby bez doświadczenia laboratoryjnego (np. co oznacza „wzorzec wewnętrzny”?). Przydatne byłoby wytłumaczenie, dlaczego wybrano akurat taki sposób analizy. Zakładam, że jest to metoda, która była wcześniej wykorzystywana w innych populacjach pacjentów – warto byłoby to napisać wraz z odpowiednim cytowaniem. Rozdział zamykają podrozdziały poświęcone badaniom markerów stanu zapalnego, metodom statystycznym (w nim do poprawy przedostatnie zdanie) oraz punktem końcowym poddanym analizie.

Wyniki opisano na 39 stronach, dla większości analiz podwójnie tzn. zarówno w tabelach jak i na wykresach. Tabele przygotowano w staranny i przejrzysty sposób, natomiast część wykresów jest mało czytelna, głównie ze względu na duże zakresy wyników oraz małą czcionkę. Ich interpretacja wymaga uważnej lektury – legenda opisująca punkty P1-P6 znajduje się w tabelach, a nie w opisie rycin. Zastanawiające są duże różnice liczby badanych próbek w różnych punktach czasowych (różnice nawet kilkukrotne). Interesujące są wyniki dotyczące wpływu antybiotykoterapii na stężenia SCFA. Jednak nie jest jasne rozróżnienie analiz z tabeli 10 i 11 oraz wykresu 3 vs tabeli 14 (antybiotykoterapia „podczas ciąży” vs „podczas ciąży i porodu”). Czy część danych dotyczących tego punktu analizowana była najpierw rozłącznie, a potem wspólnie? Wyjaśnienia wymagałaby również zmienna liczba punktów czasowych w przedstawianych analizach, np. na wykresie 7 jest ich sześć, a na wykresie 8 cztery.

Dyskusję przedstawiono na 8 stronach. Doktorantka kontynuuje wątki ze wstępu, powtarzając niektóre informacje. Jej rozważania są poparte odpowiednio dobranymi pozycjami z piśmiennictwa konfrontowanymi z uzyskanymi wynikami, w tym, na co warto zwrócić uwagę, własne publikacje. Doktorantka wielokrotnie używa bardzo istotnego dla

przeprowadzonego badania, jednak słabo zdefiniowanego w przedstawionej pracy terminu „przepuszczalność jelit”. Tak jak wspomniałem wcześniej bardzo cennym dopełnieniem przeprowadzonych analiz byłoby porównanie stężeń SCFAs z innymi parametrami oceny bariery jelitowej (np. odpowiednimi markerami). Niektóre stwierdzenia są nieco zaskakujące np. dotyczące nieoznaczania stężenia SCFA we krwi „ze względów etycznych”, podczas gdy jednocześnie w badaniu oznaczano w tradycyjny sposób stężenia CRP i IL-6. Mała inwazyjność oznaczeń SCFA pozostaje oczywiście walorem, na który warto zwrócić uwagę. Są również tezy sformułowane w nieco zbyt mocny sposób. Np. Autorka napisała, że „*należy przyjąć, że różne czynniki, zdarzenia występujące w tym krytycznym okresie [rec. - pierwszych 2 lat] mogą wpłynąć w sposób trwały na skład i liczebność mikrobioty i jej metabolizm.*” Być może jest tak faktycznie, ale przeprowadzone analizy nie uzasadniają jednoznacznie tej tezy. Może warto przedłużyć obserwacje badanej kohorty i to zweryfikować? Nie jest także w pełni zrozumiałe, dlaczego wg Doktorantki najważniejszym z analizowanych czynników była dieta (istotne różnice opisano także dla sposobu porodu) – ta myśl wymagałaby doprecyzowania. Porównując uzyskane wyniki z wcześniejszymi pracami dotyczącymi SCFA warto byłoby także uwzględnić ewentualne różnice metodologii oznaczeń. Lek. Magda Fraszczyk-Tousty cytuje w dyskusji wcześniejsze prace wskazujące na rolę czasu wprowadzania pokarmów uzupełniających – czy ten wątek był analizowany? Podobnie, dokładniej można by przeanalizować wskazania do antybiotykoterapii i cięć cesarskich. Doktorantka porusza interesujący wątek zmniejszonego wydalania SCFA w 6. i 24. miesiącu życia oraz „*opóźnioną stabilizację wydalania kwasu propionowego*”, nie definiuje jednak jak powinno być rozumiane takie „*opóźnienie*”. Niektóre fragmenty mogły być nieco szerzej opisane – np. w ostatnim akapicie dyskusji Autorka zwraca uwagę na obserwowane w 24 miesiącu życia niższe o 20% stężenie kwasu octowego u chłopców niż u dziewczynek, jednak bez wskazania na potencjalną przyczynę lub mechanizm przyczyniający się do takich różnic.

Wnioski są dość ogólne, ale odpowiadają zasadniczo założeniom pracy i są istotne naukowo. Pewną wątpliwość budzi kwestia oceny funkcjonowania bariery jelitowej w oparciu o stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Doktorantka konkluduje, że jest to

niemożliwe jednak poza wymienionymi wcześniej wątpliwościami metodologicznymi podane uzasadnienie nie brzmi w pełni przekonująco.

Po dokładnej analizie przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej Lek. Magdy Fraszczyk-Tousty stwierdzam, że spełnia ona warunki określone w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (tj. Dz. U. 2018 poz 1668) w zakresie wymagań stawianych rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu. W związku z powyższym zgłaszam do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie wniosek o dopuszczenie Lek. Magdy Fraszczyk-Tousty do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
II Kliniki Neonatologii


dr hab. n. med. Tomasz Szczapa-prof. UAMP

Dr hab. n. med. Tomasz Szczapa, Prof. UMP

Poznań, 12.09-2023