

Poznań, 24.04.2024

Prof. dr hab. n. med. inż. Andrzej Pławski

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana lekarza medycyny Filipa Fliciańskiego pod tytułem “Analiza wpływu dziedzicznych mutacji genów COL1A, COL5A1, COL11A, COMP, GSTM1 na zachorowanie na zespół kanału nadgarstka” w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne. Poniższa recenzja została przygotowana na podstawie decyzji wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, która w dniu 28 lutego 2024 roku powołała mnie na recenzenta wyżej wymienionej dysertacji.

Ocena formalna

Rozprawa doktorska Pana dr Filipa Fliciańskiego pod tytułem “Analiza wpływu dziedzicznych mutacji genów COL1A, COL5A1, COL11A, COMP, GSTM1 na zachorowanie na zespół kanału nadgarstka” została przygotowana pod kierunkiem Pana profesora Andrzeja Żyłuka w Klinice Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Ręki Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Rozprawa obejmuje 76 stron. W rozprawie zamieszczono wstęp, cel pracy, metodykę, wyniki, dyskusję, wnioski, wykaz rycin, piśmiennictwo oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Rozprawę przygotowano starannie, a zaproponowany układ jest typowy dla tego typu prac promocyjnych, w związku z tym przygotowanie rozprawy oceniam jako bardzo dobre.

Ocena merytoryczna

Genetyka jest dziedziną medycyny bardzo szybko się rozwijającą w różnych specjalnościach tej nauki. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje badania mające na celu określenie dziedzicznych uwarunkowań zespołu kanału nadgarstka. Choroba ta występuje u około 2% całej populacji, z tym że u kobiet powyżej 30 roku życia ta częstość może wynosić nawet 6%. Patofizjologia tej choroby nie jest do końca poznana i poszukuje się związku występowania

zespołu kanału nadgarstka z czynnikami genetycznymi, co wydaje się uzasadnione wobec obserwowania rodzinnych przypadków występowania tej choroby. Bezpośrednią przyczyną zespołu kanału nadgarstka jest wzrost ciśnienia panującego w kanale nadgarstka, a w większości przypadków przyczyną wzrostu ciśnienia pozostaje idiopatyczna. Wzrost ciśnienia w kanale nadgarstka powoduje ucisk nerwu pośrodkowego, co prowadzi do zaburzeń odpływu żylnego z tego obszaru, segmentalnego przekrwienia, upośledzenia dopływu tlenu i substratów odżywczych oraz obrzęku, czego skutkiem jest niedotlenienie segmentalne komórek tworzących nerw. Jest to początek całego łańcucha niekorzystnych zjawisk. Do zjawisk tych należą zaburzenie aktywnego transportu błonowego, upośledzenie tworzenia mediatorów błonowych, utrudnienie wyzwiania potencjału czynnościowego i regeneracji fragmentu błony komórkowej po wyładowaniu. Fizjologicznymi konsekwencjami tych zjawisk mogą być zwolnienie przewodzenia bodźców aż do całkowitego jego zablokowania, powstawanie impulsacji ektopowej we włóknach ruchowych, co objawia się między innymi drżeniem lub skurczami powolnymi oraz powstawania impulsacji ektopowej we włóknach czuciowych, co wywołuje ból i uczucie spalonego czucia. Pacjent odczuwa te objawy jako mrowienie, drętwienie palców i bóle ręki w obszarze unerwienia przez nerw pośrodkowy. Objawy te, w związku z tym że występują często, znacznie obniżają komfort życia osób z tą dolegliwością, ponieważ występujące bóle budzą pacjentów w nocy lub nad ranem, co ogólnie wpływa na kondycję takich osób. Takie manifestacje kliniczne mogą trwać wiele lat i w zależności od tego jak bardzo są uciążliwe, pacjenci poszukują pomocy medycznej. Postępowanie medyczne najczęściej prowadzi do leczenia operacyjnego, polegającego na przecięciu troczka zginaczy. Przyczynami zespołu kanału nadgarstka mogą być zmiany zależne od budowy anatomicznej nadgarstka, chorób systemowych i lokalnych, które zmieniają warunki w kanale nadgarstka, jak również czynniki zewnętrzne do których należą np. obciążenie ręki. Jedną z koncepcji patogenezy zespołu kanału nadgarstka jest wpływ czynników wpływających na charakterystykę strukturalnych komponentów włókien kolagenu, stanowiącego podstawowy składnik tkanki łącznej, w tym ścięgien zginaczy i troczka zginaczy. W związku z tym doktorant wytypował grupę pięciu genów *COL1A*, *COL5A1*, *COL11A*, *COMP* i *GSTM1* zaangażowanych w te procesy do badań dziedzicznych uwarunkowań występowania choroby. W mojej ocenie podjęte badania są w pełni uzasadnione naukowo i przyczynią się do pogłębienia wiedzy na temat etiopatogenezy zespołu kanału nadgarstka.

Celem badań było zbadanie wpływu dziedzicznych mutacji genów *COL1A*, *COL5A1*, *COL11A*, *COMP* i *GSTM1* na ryzyko zachorowania na zespół kanału nadgarstka. Dodatkowo za cel postawiono sobie ocenę częstości obustronnego występowania zespołu nadgarstka u pacjentów z historią rodzinną choroby, jak i bez takiej historii.

W ramach rozprawy doktorskiej przeprowadzono badania DNA od 345 pacjentów z rozpoznanym zespołem kanału nadgarstka. Grupa badana składała się z 262 kobiet i 83 mężczyzn w wieku średnio 62 lat, którzy byli leczeni w Klinice Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Ręki Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. W grupie tej w 92 przypadkach obserwowano dodatni wywiad rodzinny zespołu kanału nadgarstka. W grupie tej było 68 kobiet i 28 mężczyzn. Grupa kontrolna składała się z 1035 osób zdrowych, w tym 786 kobiet i 249

mężczyzn. Grupę kontrolną pobrano w ten sposób, aby proporcje płci kobiet i mężczyzn były zachowane w stosunku 3:1. Dobór materiału do badań uważam za prawidłowy. Uwagę zwraca bardzo liczna grupa kontrolna, co zwiększa statystyczną istotność uzyskanych wyników. Przyjęty w ramach rozprawy schemat badań molekularnych spełnia wszystkie współczesne standardy dla tego typu badań. W pierwszej fazie wykonano badanie sekwencjonowania następnej generacji (NGS) w grupie 96 pacjentów z dodatnim wywiadem rodzinnym ZKN. Jest to bardzo szczegółowe badanie całej sekwencji genów, które pozwala na wyłonienie wariantów genetycznych występujących w badanym obszarze. Następnie potwierdzono wykryte zmiany sekwencjonowaniem enzymatycznym według metody Sangera. Wykryte w analizie NGS warianty przeanalizowano pod względem istotności w dostępnych bazach danych. Do dalszych badań wytypowano pięć wariantów - dwa z nich występowały w genie *COL11A1*, dwa następne w genie *COMP* oraz jeden w genie *COL5A1*. Dla wytypowanych wariantów przeprowadzono analizę występowania w pozostałej grupie pacjentów, u których nie obserwowano historii rodzinnej oraz w grupie kontrolnej. Przeprowadzanie w ten sposób analizy związku wykrytych wariantów z chorobą jest standardem w badaniach molekularnych. W mojej ocenie metodyka przyjęta do realizacji celu związanego z molekularną częścią planowanych zadań została wybrana prawidłowo. Drugim celem pracy było zbadanie czy obustronny zespół kanału nadgarstka występuje z podobną częstością u pacjentów z historią rodzinną, jak i u pozostałych. Badanie wykonano z zastosowaniem opracowanego kwestionariusza, który był wypełniany przez badanych pacjentów, a następnie wyniki oceniono statystycznie. W tym przypadku również oceniam, że przyjęta metodyka została wybrana prawidłowo dla osiągnięcia postawionego celu.

W ramach pracy postawiono sobie bardzo ambitny cel zbadania wpływu mutacji genów *COL1A*, *COL5A1*, *COL11A*, *COMP*, *GSTM1* na ryzyko zachorowania na zespół kanału nadgarstka. W badaniach nie udało się wyszukać patogennych mutacji jednoznacznie powiązanych z występowaniem choroby. W mojej ocenie cały proces badawczy został zaplanowany i wykonany w sposób odpowiadający standardom biologii molekularnej. Z wykonanych badań wynika, że w warunkowaniu występowania zespołu kanału nadgarstka nie biorą udziału mutacje, które mają bardzo istotny wpływ na funkcję białek kodowanych przez geny *COL1A*, *COL5A1*, *COL11A*, *COMP* i *GSTM1*. Wyniki te mają znaczną wartość poznawczą, ponieważ zastosowana metodyka sekwencjonowania następnej generacji jest metodą pozwalającą na wykrycie wszystkich zmian w badanym zakresie. Rola takich wyników w poznaniu funkcji genów jest nie do przecenienia, ponieważ pozwala na jednoznaczne wykluczenie występowania określonych mutacji. Uzyskane wyniki są podstawą do dalszych badań poszukiwania innych czynników genetycznych występowania choroby lub poszukiwania w genach *COL1A*, *COL5A1*, *COL11A*, *COMP*, *GSTM1* takich zmian, które nie mają tak istotnego wpływu na funkcjonalność białka jak mutacje patogene.

Oceniam, że manuskrypt rozprawy doktorskiej został przygotowany profesjonalnie w twardej oprawie. Ryciny, jak i tabele zostały jasno i czytelnie opisane i logicznie uzupełniają tekst rozprawy. Pod względem językowym praca nie budzi moich zastrzeżeń. Rozbudowany wstęp

dobrze opisuje naukowe tło prowadzonych analiz, jak również dosyć szczegółowo opisano metody molekularne stosowane w ramach realizacji rozprawy doktorskiej. Na tej podstawie oceniam, że doktorant jako lekarz bardzo dobrze zna zastosowaną metodykę, co ma odzwierciedlenie w zrozumiałym opisie tych metod we wstępie pracy. Zastosowane metody są adekwatne dla osiągnięcia zamierzonych celów badawczych. Cele pracy określono jasno i jednoznacznie. Bardzo obszerna dyskusja jest dobrym omówieniem uzyskanych wyników, a wyciągnięte wnioski uważam za prawidłowe.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska Pana lekarza medycyny Filipa Flicińskiego pod tytułem “Analiza wpływu dziedzicznych mutacji genów *COL1A*, *COL5A1*, *COL11A*, *COMP*, *GSTM1* na zachorowanie na zespół kanału nadgarstka” spełnia wymagania określone w artykule 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym” i wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie rozprawy doktorskiej Pana lek. med. Filipa Flicińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Andrzej Pławski