

Dr hab. n. med. Dariusz Kotłęga, prof. UZ

Zielona Góra, dnia 22.07.2024

Zakład Farmakologii i Toksykologii

Uniwersytet Zielonogórski

Collegium Medicum

Ul. Zyty 28

65-046 Zielona Góra

## RECENZJA

Recenzja w postępowaniu doktorskim w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu lek. **Agnieszki Wełnickiej-Wesołowskiej**, zgodnie z uchwałą Rady Naukowej Dyscypliny Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 18.06.2024r. pt.: **„Markery zapalne krwi obwodowej a wybrane neurotrofiny płynu mózgowo-rdzeniowego w patogenezie stwardnienia zanikowego bocznego”**.

Doktorantka lek. Agnieszka Wełnicka-Wesołowska przedstawiła rozprawę doktorską o tytule „Markery zapalne krwi obwodowej a wybrane neurotrofiny płynu mózgowo-rdzeniowego w patogenezie stwardnienia zanikowego bocznego”. Funkcję promotora pełni Pani dr hab. n. med. Monika Gołąb-Janowska.

Tytuł rozprawy doktorskiej stanowiącej podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora został dobrany trafnie, oddaje merytoryczną treść rozprawy, odzwierciedla postawione cele i wnioski pracy. Warto zwrócić uwagę, że zakres badania przekraczał jedynie patogenezę stwardnienia zanikowego bocznego, ale również przeprowadzono analizę w zakresie wpływu wybranych parametrów na stan funkcjonalny pacjentów dotkniętych tą chorobą, co znacznie zwiększa wartość merytoryczną pracy.

Rozprawa doktorska przedstawiona została na 208 stronach. W skład pracy wchodzi strona tytułowa, spis treści wraz z wykazem skrótów, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, ograniczenia pracy, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel, spis rycin, załączniki, piśmiennictwo. Praca zawiera 6 tabel i 11 rycin. Układ pracy jest właściwy, zachowana została odpowiednia kolejność i przejrzystość prezentowanych wyników.

We wstępie Doktorantka zaprezentowała w sposób zrozumiały patogenezę, symptomatologię i rys historyczny stwardnienia zanikowego bocznego. Ponadto opisana została dokładnie epidemiologia i postacie kliniczne tej choroby. Szczegółowo przedstawione zostały zagadnienia dotyczące roli stanu zapalnego czy też czynników środowiskowych w etiopatogenezie SLA. Wartościowym elementem wstępu było przedstawienie kryteriów rozpoznania choroby wraz z przeglądem kryteriów z perspektywy ich modyfikacji i punktu widzenia lekarza praktyka. Na uwagę zasługuje także fragment dotyczący możliwości leczenia tej choroby w zakresie dostępnych medykamentów, niestety o niskiej skuteczności, jak również tych skuteczniejszych, będących w fazie badań lub na etapie rejestracji.

Za cel pracy Doktorantka postawiła sobie próbę odpowiedzi na 2 pytania kliniczne:

1. czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem markerów zapalnych krwi obwodowej (leukocytów i poszczególnych frakcji, fibrynogenu i białka C-reaktywnego) a stężeniem wybranych neurotrofin płynu mózgowo-rdzeniowego (frakcji beta czynnika wzrostu nerwów, neurotroficznym czynnikiem pochodzenia mózgowego, neurotrofiną 3, czynnikiem martwicy nowotworów, receptorem czynnika martwicy nowotworów typu 1) i stężeniem białka C-reaktywnego płynu mózgowo-rdzeniowego u pacjentów ze sporadyczną postacią stwardnienia zanikowego bocznego?
2. czy istnieje związek pomiędzy stężeniem badanych markerów zapalnych krwi obwodowej i płynu mózgowo-rdzeniowego oraz wybranych neurotrofin a obrazem klinicznym choroby?

Sformułowane w taki sposób cele pracy stanowią spójną całość i pozwalają na przeprowadzenie analizy odpowiadającej tytułowi rozprawy doktorskiej, choć jak wspomniano powyżej, zakres tematyczny objęty badaniami i przedstawiony w wynikach i dyskusji wykracza poza temat pracy.

Metodologia pracy badawczej będącej podstawą przygotowania rozprawy doktorskiej została opisana czytelnie i właściwie dobrana. W badaniu wzięło udział 45 pacjentów z pewnym lub prawdopodobnym rozpoznaniem SLA, będących uczestnikami badania klinicznego numer NCT02193893 prowadzonego w Katedrze i Klinice Neurologii PUM w Szczecinie

w latach 2018-2019 (Kierownik Kliniki – prof. dr hab. n. med. Przemysław Nowacki). Pacjenci ocenieni zostali za pomocą skal odzwierciedlających zaawansowanie choroby i jakość życia: zmodyfikowaną Skalą Norrisa, Skorygowaną Funkcjonalną Skalą Stwardnienia Zanikowego Boczego (*ang. Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-Revised, ALSFRS-R*) oraz Skalą ALSAQ-40 (*ang. Amyotrophic Lateral Sclerosis Assessment Questionnaire -40, ALSAQ-40*).

Grupę kontrolną (n=30) stanowiły osoby zgłaszające się z powodu bólu głowy do izby przyjęć.

U wszystkich badanych osób wykonano badania fizykalne oraz wybranych parametrów w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym: morfologia krwi pełna, CRP i fibrynogen (surowica) oraz CRP, BETA-NGF, BDNF, NT-3, TNF-ALFA, TNFR-1 (płyn mózgowo-rdzeniowy).

Badanie zostało pozytywnie zaopiniowane przez Komisję Bioetyczną Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie (nr uchwały KB-0012/06/10/A-1 podjęta dn. 25.01.2010r. z następową zgodą na zmiany dn. 27.01.2020r.) i wykonane zgodnie z Deklaracją Helsińską. Wszyscy uczestnicy podpisali świadomą zgodę na udział w badaniu.

Wyniki zostały dokładnie zaprezentowane w 4 tabelach i 9 rycinach, które są czytelne i klarownie prezentują analizowane zagadnienia.

Dyskusja przeprowadzona została na 16 stronach z odniesieniem się do uzyskanych wyników i dostępnej literatury, co stanowi właściwą formę tego działu. Doktorantka w sposób zrozumiały i kompleksowy przedstawiła dyskusję, swobodnie poruszając się w poruszanej tematyce, co wskazuje na głęboką wiedzę w badanej tematyce.

Ograniczenia pracy przedstawione zostały jako osobny punkt pracy doktorskiej. Pani dr Weñnicka-Wesołowska zwróciła uwagę na różnicę w zakresie wieku pomiędzy grupą badaną a grupą kontrolną, co w pewnym stopniu mogło wpłynąć na część uzyskanych wyników, ale nie miało znaczenia przy wnioskowaniu w zakresie głównego tematu pracy. Rzeczywiście, wielkość grupy badanej w liczbie 45 przy chorobie jaką jest SLA, należy uznać za odpowiednią.

Sformułowane przez Doktorantkę wnioski oddają w pełni cele pracy. Doktorantka wskazuje, że:

1. Nie istnieje zależność pomiędzy stężeniem markerów zapalnych krwi obwodowej a stężeniem wybranych neurotrofin płynu mózgowo-rdzeniowego i stężeniem białka C-reaktywnego płynu mózgowo-rdzeniowego u pacjentów ze sporadyczną postacią stwardnienia zanikowego bocznego. Najbardziej obiecującymi

substancjami badanymi w płynie mózgowo-rdzeniowym, mogącymi być odpowiedzią na toczący się stan zapalny, okazała się neurotrofina 3 oraz CRP.

2. U chorych ze stwardnieniem zanikowym bocznym wyższe stężenie TNFR-1 w płynie mózgowo-rdzeniowym było związane z większym nasileniem choroby, co może czynić TNFR-1 potencjalnym markerem prognostycznym ALS.

Piśmiennictwo zawiera aż 439 pozycji, które zostały przedstawione w sposób jednolity, przedstawiają źródła w klasycznej literaturze w dziedzinie neurologii, obejmują pozycje krajowe, zagraniczne sięgając od publikacji historycznych aż do najbardziej aktualnych.

Podsumowując uzyskane wyniki zaprezentowane w ocenianej rozprawie doktorskiej należy stwierdzić, że przedstawiają one niezwykle ważne i interesujące zagadnienie. Brak skuteczniejszych metod leczenia w stwardnieniu zanikowym bocznym powoduje, że badania w zakresie lepszego zrozumienia patogenezy tej choroby są niezbędne i oczekiwane. Doktorantka zwróciła uwagę na wiele aspektów dotyczących patogenezy SLA. Warto podkreślić słowa Doktorantki, że stan zapalny nie odgrywa jedynie negatywnego wpływu, ale również stanowi niezbędną część procesu zdrowienia, przez pryzmat czego należy oceniać uzyskane w przedstawionej pracy wyniki badań. We wstępie szczegółowo została opisana aktywacja mikrogleju, która ma znaczenie w interpretacji uzyskanych wyników, co znalazło odzwierciedlenie w dyskusji i z pewnością zwiększa wartość merytoryczną pracy.

Doktorantka wskazała w swoich wynikach na bardzo silną korelację pomiędzy CRP w surowicy a płynie mózgowo-rdzeniowym. W pracy znajduje się informacja, że w przypadku przekroczenia pewnej wartości tego białka w surowicy ( $>2,5\text{mg/l}$ ), można oczekiwać wtórnego wzrostu CRP w płynie mózgowo-rdzeniowym. Stężenie CRP  $>2,5\text{mg/l}$  dotyczyło 20% osób z grupy kontrolnej. Zastanawiające czy były to osoby z wyższym stężeniem CRP w płynie mózgowo-rdzeniowym.

Doktorantka zwróciła uwagę na przeciwstawne zależności w zakresie wykładników stanu zapalnego takich jak CRP i fibrynogenu. Rzeczywiście, udział fibrynogenu i BDNF w szlakach fibrylizacji może odgrywać tu znaczenie, jednak należy pamiętać, że zarówno CRP jak i fibrynogen są wysoce niespecyficznymi markerami, więc Doktorantka słusznie wykazała się ostrożnością w formułowaniu kategorycznych wniosków w tym zakresie.

Po raz pierwszy zbadano zależność obliczanego wskaźnika NLR w odniesieniu do neurotrofiny BDNF w płynie mózgowo-rdzeniowym – co prawda nie stwierdzono istotnej zależności, ale jej brak również

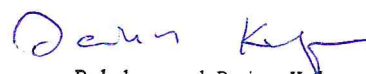
wnosi w rozwój badań i wiedzy. Wartościowym wynikiem było stwierdzenie wyższego stężenia NT-3 i BDNF w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej, co poddane zostało adekwatnej dyskusji.

Doktorantka wskazała na interesujące obserwacje, które pojawiły się po wykonaniu badań i które to mogłyby stanowić wartościową tematykę przyszłych prac badawczych przez Panią doktor Agnieszkę Wełnicką-Wesołowską. Dotyczy to roli receptora TrkC i NT-3 w interakcjach związanych z obecnością stanu zapalnego.

Na uwagę zasługuje wynik wskazujący na związek pomiędzy nasileniem choroby a wyższym stężeniem receptora TNFR-1 w płynie mózgowo-rdzeniowym, co także może stanowić obiecujący temat przyszłych badań.

Z nielicznych, drobnych uwag należy stwierdzić, że Charcot opublikował swoją pracę 100 lat wcześniej, niż podaje Doktorantka, ale zapewne jest to tylko omyłka edytorska. Jak wspomniano wcześniej, niezwykle bogaty i wartościowy zakres przeprowadzonych przez Doktorantkę badań mógłby zostać bardziej zaakcentowany w tytule pracy.

Rozprawa doktorska wskazuje na głęboką wiedzę teoretyczną Doktorantki w dyscyplinie naukowej nauk medycznych w badanym zakresie oraz potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Całokształt rozprawy doktorskiej jest na najwyższym poziomie, dotyka niezwykle istotnych i nowatorskich aspektów badawczych w tematyce stwardnienia zanikowego bocznego. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Agnieszki Wełnickiej-Wesołowskiej całkowicie i jednoznacznie wypełnia wymagania stawiane kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora. Moja ocena jest zdecydowanie pozytywna, w związku z czym wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



*Dr hab. n. med. Dariusz Kotłega*

prof. UZ, specjalista neurolog  
lekarz, 2243396

