

Poznań, 30 czerwca 2022 roku

Dr hab. n. med. Ewa Wysocka
Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Wydział Medyczny
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Recenzja rozprawy doktorskiej
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne
przygotowanej przez
mgr Magdalenę Sienkiewicz

pt. Ocena profilu izoform transferyny w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów

Promotor: dr hab. n. med. Bogdan Cylwik
Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatricznej
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Zgodnie z Uchwałą nr 162/2022 Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 28.04.2022 r., zacytowaną w piśmie Dziekana Kolegium Nauk Farmaceutycznych UMB z dnia 25.05.2022 r., przedstawiono do oceny rozprawę doktorską mgr Magdaleny Sienkiewicz.

Rozprawa doktorska liczy w sumie 172 strony i składa się z przygotowanych, według przewidzianych standardów, kolejnych części: Spis treści, Wykaz skrótów, Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki badań, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie, Summary (streszczenie w języku angielskim), Piśmiennictwo, Wykaz tabel i rycin, Załącznik (kopia zgody właściwej komisji bioetycznej).

Praca dotyczy znaczenia klinicznego profilu izoform transferyny w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów, najczęstszej zapalnej chorobie reumatycznej u dzieci. Choroba przebiega z szerokim spektrum objawów klinicznych, jej etiologia nadal jest przedmiotem badań a w piśmiennictwie wciąż brakuje wyczerpujących danych z obszaru diagnostyki laboratoryjnej w tej patologii. Ze względu na niespecyficzne objawy okresu początkowego, możliwość przewlekłego przebiegu choroby i rozwoju powikłań, w tym kalectwa, badania nad użytecznością kliniczną markerów procesu zapalnego w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów (MIZS) zasługują na szczególną uwagę.

We wstępie Doktorantka przedstawiła klasyfikację chorób reumatycznych u dzieci. W sposób modelowy przybliżyła aktualny stan wiedzy na temat młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów. Kandydatka omówiła epidemiologię oraz dotychczasowe ustalenia etiopatogenetyczne dla MIZS - infekcyjne, środowiskowe i genetyczne - zaznaczając obszary wciąż wymagające wyjaśnienia. Autorka nie pominęła obrazu klinicznego choroby, diagnostyki obrazowej i histopatologicznej oraz wyzwań diagnostyki różnicowej poszczególnych postaci choroby i aktualnych możliwości oceny przebiegu procesu chorobowego, zaznaczając rolę badań laboratoryjnych w diagnostyce i monitorowaniu MIZS. Przygotowując materiał do publikacji, należy zwrócić uwagę na prawidłowe przedstawienie parametrów laboratoryjnych. Przy wskazaniu trombocytów w ocenie morfologii krwi (str.35), potraktowanie wskaźnika MPV (ang. *mean platelet volume*) jako wskaźnika średniej liczby płytek krwi i zacytowanie go w takim

kontekście, zwłaszcza przy prawidłowym wyjaśnieniu MPV w wykazie skrótów, traktuję jako przejęzyczenie.

Doktorantka skrupulatnie przedstawiła dotychczasowy stan wiedzy na temat roli reakcji ostrej fazy w patogenezie MIZS oraz znaczenie białek ostrej fazy – diagnostyczne i prognostyczne. Sprawnie omówiła trudne zagadnienia biochemiczne, dotyczące znaczenia procesu glikozylacji białek. Wyczerpująco przedstawiła budowę i funkcję transferyny, szczegóły biochemiczne warunkujące jej mikroheterogenność oraz przydatność diagnostyczną oceny wzoru glikozylacji tego białka w stanach patologicznych. Kandydatka wskazała aspekty kliniczno-laboratoryjne zmian profilu glikoform transferyny m.in. we wrodzonych zaburzeniach glikozylacji białek, w procesie nowotworzenia i w przypadku nadużywania alkoholu. Autorka przedstawiła także dotychczasowe efekty badań naukowych dotyczące zaburzeń glikozylacji białek w chorobach reumatycznych, podkreślając niedostatek prac z tego obszaru u dzieci.

Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością tematu i umiejętnością wybrania informacji kluczowych dla zrozumienia założeń i celu ocenianej pracy, szczegółowo przedstawionego w sześciu punktach. Badania podjęła w celu oceny zmian stężenia transferyny oraz wyznaczenia profilu glikozylacji izoform transferyny i określenia jego przydatności klinicznej, w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów.

W rozdziale: Materiał i metody, Autorka scharakteryzowała badane grupy oraz wnikliwie omówiła zastosowane metody badawcze. Szczegółowo opisała grupę 77. pacjentów (53. dziewcząt i 24 chłopców) oraz 39. dzieci (22 dziewcząt i 17 chłopców) z grupy kontrolnej. Metodologia zastosowana w pracy jest poprawna i dobór metod analitycznych był właściwy. Kandydatka zaplanowała także właściwą analizę statystyczną wyników swoich badań. W podrozdziale 3.1.5.: Aparatura, Recenzentowi brakuje wskazania miejsca wykonania badań laboratoryjnych – czy był to Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatricznej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku? W pracy wykorzystano wyniki oceny aktywności procesu chorobowego i stanu funkcjonalnego dziecka, przeprowadzonej podczas hospitalizacji, co wskazuje na kliniczno-laboratoryjną ciekawość Kandydatki i wzbogaca rozprawę doktorską, jednocześnie - potwierdza stworzenie przez Promotora optymalnych warunków pracy badawczej w dziedzinie nauk medycznych. Uznanie budzi także fakt zastosowania szerokiego panelu parametrów laboratoryjnych dla oceny reakcji zapalnych w badanych grupach.

Doktorantka starannie opracowała uzyskane wyniki i przedstawiła proces przeprowadzonej analizy statystycznej, co świadczy o gruntownej znajomości zagadnień. Tabele i wykresy ułatwiają śledzenie wypowiedzi Autorki. Kandydatka rzetelnie przedstawiła charakterystykę laboratoryjną pacjentów i grupy kontrolnej. Zaprezentowała wyniki oceny stężenia transferyny i profilu jej izoform w grupie kontrolnej i u pacjentów z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów, z uwzględnieniem dwóch najczęstszych postaci choroby: MIZS o początku nielicznostawowym, OA, i wielostawowym seronegatywnym, PA-RF(-), a także w zależności od stopnia aktywności choroby i stanu funkcjonalnego dziecka. Zdaniem Recenzenta, liczba pacjentów przedstawionych w Tabeli 25: z niską (n=3), umiarkowaną (n=6) i dużą (n=48) aktywnością choroby wymaga komentarza w tekście, skoro łącznie stanowi 57 przy, poza tym,

wykazywanej liczbie 67 pacjentów. Doktorantka przeprowadziła bardzo cenną analizę użyteczności klinicznej stężenia transferyny i profilu glikoform tego białka w rozpoznawaniu MIZS oraz różnicowaniu postaci OA i PA-RF(-). Rzetelnie i przejrzysto przedstawiła wyniki przeprowadzonej oceny wartości diagnostycznej stężenia transferyny i wzoru odsetkowego jej izoform, a sposób omówienia wyników analiz statystycznych i poddanie ich dyskusji, pokazuje profesjonalizm Autorki w posługiwaniu się narzędziami statystycznymi.

Doktorantka przygotowała ciekawą dyskusję, choć w części (dotyczącej osób badanych) jest ona powtórzeniem treści zawartych w rozdziale: Materiał i metody oraz w rozdziale: Wyniki. Kandydatka zaznaczyła, że w dostępnym piśmiennictwie nie znalazła wyników badań dotyczących profilu izoform transferyny u pacjentów z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów. Dyskusja zawiera dojrzałe omówienie kliniczne uzyskanych wyników i wskazanie niewielkiej wartości diagnostycznej przeciwciał (czynnik reumatoidalny i anty-CCP) w przebiegu MIZS. Autorka porównała wyniki swoich badań z dostępnymi efektami oceny profilu izoform transferyny u osób dorosłych z reumatoidalnym zapaleniem stawów, u których badacze raportują częściowo odmienne profile glikoform transferyny. Rezultatem rozważań Doktorantki jest stwierdzenie, że profil izoform transferyny może różnić się w zależności od m.in. wieku pacjenta i czasu trwania procesu zapalnego tkanki łącznej przed postawieniem właściwego rozpoznania. Autorka podkreśla także możliwość dysfunkcji transferyny w zależności od jej polimorfizmu. Zaburzenie transportu żelaza do komórek, w okresie wzrastania u dzieci i młodzieży, ma szczególne znaczenie. Kandydatka rozważa również mechanizmy kompensacyjne, chroniące przed rozwojem jawnej niedokrwistości chorób przewlekłych i ostrożnie wskazuje potencjalne znaczenie profilu izoform transferyny, wraz z badaniem morfologii krwi, do oceny wydajności tych mechanizmów. Jedną z sugestii Autorki jest stwierdzenie, że określony profil izoform transferyny może wyprzedzać zmiany wartości klasycznych markerów zapalenia (OB i CRP) w postaci nielicznostawowej MIZS. Dla każdej z analizowanych postaci choroby, AO i PA-RF(-), inna glikoforma transferyny wykazuje potencjalne znaczenie kliniczne. Kandydatka nie unika trudnych pytań podczas interpretacji wyników badań laboratoryjnych. Zaobserwowany brak prostych korelacji transferyny i poszczególnych jej izoform z innymi białkami ostrej fazy, na obecnym etapie badań prowadzonych przez Doktorantkę, może wskazywać na złożone uwarunkowania procesu zapalnego i klinicznej manifestacji postaci o początku wielostawowym seronegatywnym. Z pewnością zachęca też do kontynuowania badań pod kierunkiem Pana Profesora Bogdana Cylwika. Autorka przeprowadziła bardzo cenną analizę ROC dla badanych parametrów: transferyny i frakcji trisjalo-, tetrasjalo- i pentasjalo-transferyny w rozpoznawaniu MIZS oraz najczęstszych postaci tej choroby. Omówienie wyników wskazuje na szczególne znaczenie izoform transferyny, w tym pentasjalo-transferyny charakteryzującej się bardzo dobrą mocą diagnostyczną przy różnicowaniu postaci o początku wielostawowym od grupy kontrolnej, w populacji dzieci i młodzieży. W trakcie dyskusji, Kandydatka prowadzi ciekawy dialog kliniczno-laboratoryjny, przedstawiając możliwości zastosowania otrzymanych wyników w praktyce klinicznej i konsekwentnie zmierza do wyciągnięcia syntetycznych wniosków.

Siedem wniosków rozprawy doktorskiej, poprawnie sformułowanych, w pełni odpowiada postawionym celom. Doktorantka wykazała zmianę stężenia transferyny i profilu jej izoform w surowicy u pacjentów z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów. Udowodniła istotne powiązania zaburzenia procesu sjalizacji (glikozylacji) z aktywnością procesu zapalnego u pacjentów z MIZS. Wykazała użyteczność kliniczną określonych izoform transferyny w ocenie stopnia aktywności choroby. Ustaliła znaczenie diagnostyczne poszczególnych glikoform w rozpoznawaniu MIZS i jego dwóch najczęstszych postaci.

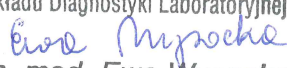
Praca napisana jest z dbałością o zachowanie reguł poprawnej polszczyzny.

Piśmiennictwo stanowi 167 pozycji, włączając materiały firmowe dotyczące aparatury i odczynników. Obejmuje istotne prace z obszaru badanego przez Doktorantkę, które pochodzą w 23% z ostatnich 5 lat, w 28% z lat 2011-2016, w 32% z lat 2000-2010 i w 17% sprzed 2000 roku.

Praca wypełnia lukę dotyczącą dysproteinemii, a zwłaszcza zmian jakościowych białek (profil izoform transferyny), w przebiegu przewlekłych nieinfekcyjnych procesów zapalnych u dzieci. Zasluguje na szczególną uwagę kliniczno-laboratoryjną. Uzyskane wyniki i zaproponowane wnioski powinny skłonić do przeprowadzenia badań również w innych ośrodkach klinicznych. Doktorantkę z pewnością zachęciły do kontynuowania badań na rzecz poszerzenia dotychczasowego udziału badań laboratoryjnych w diagnostyce i monitorowaniu zapalnych chorób reumatycznych u dzieci i młodzieży.

Podsumowując, przedłożona do recenzji rozprawa doktorska jest bardzo ważnym dokumentem dotyczącym poszukiwań biomarkerów zapalnych chorób reumatycznych u dzieci i podnosi znaczenie medycyny laboratoryjnej w praktyce klinicznej. Doktorantka wykazała się znajomością wyzwań współczesnej diagnostyki chorób reumatycznych w wieku dziecięcym. Zastosowała właściwe, nowoczesne metody badawcze, zrealizowała założone cele oraz w dojrzały i krytyczny sposób przedyskutowała wyniki. Sformułowane przez Autorkę wnioski potwierdzają sens podejmowania trudu przekładania zdobyczy biochemii do praktyki klinicznej. Nowością pracy jest przedstawienie profilu glikoform transferyny i ocena zmian tego profilu we krwi pacjentów z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów, z uwzględnieniem dwóch najczęstszych postaci choroby. Wyniki i wnioski rozprawy mogą polepszyć dotychczasowe postępowanie diagnostyczne, a w przyszłości także monitorowanie, w przypadku młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów.

Biorąc pod uwagę całość rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Sienkiewicz, stwierdzam, że Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. *Ustawa o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Wnoszę do Wysokiej Rady Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Magdaleny Sienkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej

dr hab. n. med. Ewa Wysocka