



Dr. hab. n. med. Anna Mosiołek

Klinika Psychiatryczna NOZ

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja pracy doktorskiej lek. Karoliny Wilczyńskiej pt. „Ocena przydatności oznaczeń markerów amyloidowych, białka tau i YKL-40 we krwi w różnicowaniu i monitorowaniu przebiegu otępień.”

Rozprawa doktorska lek. Karoliny Wilczyńskiej dotyczy oceny przydatności oznaczeń w surowicy, stężeń wybranych białek związanych z patogenezą otępień jako prostych, niedrogich badań przesiewowych, które mogłyby być zlecane przez lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej pacjentom z grup ryzyka, w celu identyfikowania osób wymagających dalszej specjalistycznej diagnostyki. W przeprowadzonym badaniu oznaczono stężenia potencjalnych biomarkerów w surowicy chorych z najczęściej występującymi otępieniami – AD, VaD i MxD oraz zdrowych osób po 60. roku życia. Otępienie stanowi aktualnie jeden z najważniejszych problemów zdrowia publicznego na świecie. Rozpowszechnienie otępień ocenia się na 5,2 - 8,0/100 osób. Aktualnie ocenia się, że w Polsce ok. 250 tys. choruje na chorobę Alzheimera. Otępieniem nazywamy zespół objawów spowodowanych chorobą mózgu, zwykle o charakterze przewlekłym lub postępującym, w którym zaburzone są funkcje poznawcze: pamięć, myślenie, orientacja, liczenie, język, ocena, zdolność do uczenia się. Ponadto występuje obniżenie kontroli nad reakcjami emocjonalnymi, społecznymi, zachowaniem i motywacją. W otępieniu świadomość nie jest zaburzona (zaburzenia świadomości mogą się pojawić jako powikłania procesu otępiennego). Żeby rozpoznać otępienie obniżenie sprawności intelektualnej i upośledzenie funkcjonowania w życiu codziennym powinno występować co najmniej 6 miesięcy. W większości przypadków otępienie jest chorobą postępującą i nieuleczalną, a konieczność opieki nad chorymi generuje poważne koszty społeczne i ekonomiczne. Niestety ciągle zbyt duża liczba chorych z otępieniem jest diagnozowana zbyt późno, zazwyczaj w trakcie zaawansowanego stadium choroby, gdy możliwości terapeutyczne są bardzo ograniczone a rokowanie w chorobie zazwyczaj jest bardzo niekorzystne. Fakt ten skłania do poszukiwań coraz nowszych rozwiązań diagnostycznych, w tym poszukiwania biomarkerów stosowanych do oceny ryzyka zachorowania, diagnostyki, monitorowania i prognozowania przebiegu choroby. Biomarker

to zdefiniowana cecha (molekularna, histologiczna, radiologiczna, fizjologiczna) mierzona jako wskaźnik normalnych procesów biologicznych, procesów patologicznych lub odpowiedzi na ekspozycję bądź interwencję. Doktorantka w swojej pracy oceniała przydatność biomarkerów A β 1-40, A β 1-42, t-tau i YKL-40 w diagnostyce występowania otępienia, przydatność tych biomarkerów w różnicowaniu otępienia alzheimerowskiego, naczyniopochodnego i mieszanego oraz związek stężeń A β 1-40, A β 1-42, t-tau i YKL-40 ze stopniem zaawansowania otępienia. Temat podjęty przez Doktorantkę jest jak najbardziej aktualny, interesujący oraz niezwykle istotny z punktu widzenia zdrowotnego.

Rozprawa doktorska lek. Karoliny Wilczyńskiej ma formę spójnego tematycznie cyklu dwóch publikacji, obejmujących. Praca doktorska w formie cyklu publikacji została przygotowana w oparciu o pracę przeglądową „Diagnostic utility of selected serum dementia biomarkers: amyloid β -40, amyloid β -42, tau protein, and YKL-40: a review” oraz pracę oryginalną pt. „Serum amyloid biomarkers, tau protein and YKL-40 utility in detection, differential diagnosing, and monitoring of dementia”. Sumaryczna punktacja cyklu prac włączonych do pracy doktorskiej wynosi 8,399 IF oraz 240 MNiSW, we wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Rozprawa doktorska liczy 80 stron i ma układ klasyczny dla prac doktorskich w formie cyklu publikacji - zawiera spis treści, wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, kopię pracy przeglądowej, kopię publikacji oryginalnej, streszczenie w języku polskim oraz w języku angielskim, uchwałę komisji bioetycznej, informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz szacunkowym określeniem procentowego wkładu każdego z nich, oświadczenia o zgodzie na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej oraz piśmiennictwo. Rozprawa napisana jest jasno, pod względem redakcyjnym nie budzi zastrzeżeń, a proporcje pomiędzy poszczególnymi częściami są prawidłowe.

We wstępie, Autorka w bardzo jasny i uporządkowany sposób dokonała charakterystyki klinicznej oraz podziału otępień, szczegółowo opisała rolę amyloidu beta, białka tau oraz markeru zapalnego YKL-40 w patofizjologii otępień. Autorka posłużyła się aktualnym piśmiennictwem.

W kolejnej części rozprawy Doktorantka przedstawiła cel pracy (strona 12), którym była ocena przydatności oznaczeń w surowicy stężeń wybranych białek związanych z patogenezą otępień jako prostych, niedrogich badań przesiewowych. Badania te mogłyby być zlecane przez lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej pacjentom z grup ryzyka, w celu identyfikowania osób wymagających dalszej specjalistycznej diagnostyki. Cele szczegółowe pracy obejmowały: ocenę przydatności A β 1-40, A β 1-42, t-tau i YKL-40 w diagnostyce występowania otępienia; ocenę przydatności A β 1-40, A β 1-42, t-tau i YKL-40 w różnicowaniu otępienia alzheimerowskiego, naczyniopochodnego i mieszanego; ocenę korelacji stężeń A β 1-40, A β 1-42, t-tau i YKL-40 ze stopniem zaawansowania otępienia; ocenę zmian stężeń A β 1-40, A β 1-42, t-tau i YKL-40 po czterech tygodniach hospitalizacji.

W przeprowadzonym badaniu oznaczono stężenia potencjalnych biomarkerów w surowicy chorych z najczęściej występującymi otępieniami – AD, VaD i MxD oraz zdrowych osób po 60. roku życia.

Materiał, metodyka oraz wyniki zostały zawarte w publikacji oryginalnej. Badaniem objęto 60 spośród wstępnie zakwalifikowanych 100 pacjentów z otępieniem (20 z AD, 20 z VaD, 20 z MxD) oraz 20 zdrowych ochotników powyżej 60 roku życia, po wyrażeniu pisemnej zgody. Protokół badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku (R-I-002/62/2016). Badanie obejmowało ocenę Krótką Skalą Oceny Stanu Psychicznego (MMSE) oraz geriatryczną Skalą Depresji (GDS), pacjenci mieli wykonaną tomografię komputerową głowy, morfologię krwi obwodowej, stężenie elektrolitów – sodu, potasu i chlorków, poziom wapnia całkowitego w surowicy, stężenie mocznika i kreatyniny, aktywność transaminaz wątrobowych, stężenie białka C-reaktywnego (CRP), stężenie hormonu tyreotropowego, stężenie kwasu foliowego i witaminy B12. Stężenia badanych biomarkerów oznaczano we krwi żyłnej, w dwóch próbkach pobieranych w odstępie 4 tygodni, a w grupie kontrolnej w pojedynczych próbkach. Stężenie YKL-40, t-tau, A β 1-42 i A β 1-40 oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA. Absorbancję mierzono czytnikiem mikroplatek Infinite M200 PRO Multimode Microplate Reader. Analizy statystycznej dokonano przy użyciu programu GraphPad Prism 7.0 for MacOS, normalność rozkładu oceniano testem D'Agostino-Pearsona i Shapiro-Wilka. Jednorodność wariancji badano testem Levene'a. Do porównań między grupami użyto ANOVA i testu Tukey'a, a w przypadku braku rozkładu normalnego - testu Kruskala-Wallisa i testu ANOVA Dunna. Korelacje między stężeniami biomarkerów oceniano przy zastosowaniu współczynnika korelacji Pearsona. Użyteczność diagnostyczną badanych markerów w pracy oceniono z zastosowaniem krzywej ROC, natomiast przedziały ufności dla czułości i specyficzności obliczono metodą Wilsona/Browna.

Omówienie w rozprawie doktorskiej badań wykonanych przez lek. Karolinę Wilczyńską zostało przeprowadzone w sposób prawidłowy. Doktorantka poprawnie przedstawiła znaczenie kliniczne podjętych badań. „Materiał i metody” Doktorantka opisała satysfakcjonująco, uzupełniając w nich opisy rycinami, wykresami i tabelami.

Uzyskane wyniki zostały klarownie przedstawione. Doktorantka w swoich badaniach wykazała przydatność oceny biomarkerów YKL-40 w diagnostyce AD, VaD i MxD oraz przydatność t-tau w diagnostyce AD i MxD, lecz nie VaD. Autorka wykazała wysoką przydatność YKL-40 i umiarkowaną t-tau w różnicowaniu między osobami zdrowymi a pacjentami z MD. YKL-40 okazało się też przydatne w różnicowaniu między MD a MSD. Przeprowadzona przez doktorantkę analiza regresji wykluczyła wpływ płci i wieku na stężenia biomarkerów, potwierdziła natomiast wpływ ciężkości otępienia (punktacji MMSE) na stężenia YKL-40 i t-tau. Przedstawione przez autorkę wnioski poparte są wynikami

przeprowadzonych badań. Autorka nie zauważyła przydatności żadnego z biomarkerów w różnicowaniu otępień. Potwierdziła, że YKL-40 może być przydatny w diagnostyce we wszystkich rodzajach otępień, były niezależne od płci i wieku, może być używane w wykrywaniu otępień wczesnych i różnicowaniu otępień. Marker t-tau podobnie jak YKL-40 był niezależny od płci i wieku, okazał się być przydatny w diagnostyce otępień z komponentą alzheimerowską. Autorka wskazała, że t-tau może być przydatne w diagnostyce wczesnego otępienia, szczególnie gdy zastosowanie YKL-40 będzie ograniczone przez współchorobowość. W przedstawionym badaniu nie uzyskano wyników wskazujących na przydatność diagnostyczną markerów amyloidowych w diagnostyce otępienia. Autorka zauważyła, że po czterech tygodniach hospitalizacji istotny statystycznie spadek stężeń A β 1-42 w grupie z AD, mający najprawdopodobniej charakter nieswoisty, wtórny do poprawy ogólnego stanu zdrowia. Rozprawa doktorska lek. Karoliny Wilczyńskiej cechuje wysoka wartość merytoryczna. Autorka wykazała się umiejętnościami wprowadzenia w tematykę przeprowadzonych badań, prawidłowo dobrała metody badawcze i narzędzia statystyczne do analizy danych. Sposób przedstawienia wyników był jasny i rzetelny, zostały one zinterpretowane na tle literatury przedmiotu. Wnioski zostały przedstawione w sposób przejrzysty i poprawny.

Po zapoznaniu się z pracą doktorską lek. Karoliny Wilczyńskiej należy – niezależnie od podkreślenia jej walorów poznawczych – odnotować kilka niezwykle ważnych jej aspektów, które zawarte zostały w logiczne wnioski (strona 29 rozprawy doktorskiej).

Lektura pracy doktorskiej nasuwa jedynie nieliczne uwagi:

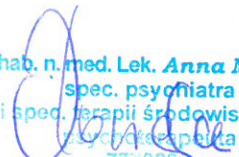
- warto byłoby nieco szerzej opisać możliwości wykorzystania uzyskanych wyników w praktyce klinicznej.
- należałoby postawić hipotezy badawcze.

Podsumowując, badania podjęte przez lek. Karolinę Wilczyńską znajdują pełne uzasadnienie, zostały zaplanowane i przeprowadzone w sposób prawidłowy metodycznie, a uzyskane wyniki Doktorantka przedyskutowała w sposób dojrzały. Poza tym, Doktorantka wykazała się szeroką znajomością literatury z zakresu zagadnień dotyczących tematu pracy. Nieliczne uwagi zostały dokonane z obowiązku recenzowania i nie mają kardynalnego wpływu na całościową ocenę rozprawy.

Reasumując, przedłożona do recenzji rozprawa doktorska lek. Karoliny Wilczyńskiej, na którą składają się dwie publikacje, które zostały opublikowane w międzynarodowych i renomowanych czasopismach, zawiera dane o istotnym znaczeniu naukowym i praktycznym, a uzyskane wyniki stanowią znaczący wkład do dotychczasowej wiedzy na temat możliwości wykorzystania oceny biomarkerów w diagnostyce otępień. Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, Doktorantka odpowiedziała i zrealizowała wszystkie postawione pytania i cele badawcze, wykazała się wiedzą teoretyczną w dyscyplinie oraz posiada umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych; tym

samym rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2022 r. poz. 574). i spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom promocyjnym na stopień doktora.

W związku z tym, zwracam się z wnioskiem do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o **dopuszczenie** lek. Karoliny Wilczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Dr hab. n. med. Lek. **Anna Mosiołek**
spec. psychiatra
i spec. terapii środowiskowej
psychogeriatra
7772298