



Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
KATEDRA I ZAKŁAD BIOLOGII KOMÓRKI

kierownik Katedry i Zakładu: *prof. dr hab. Małgorzata KOTWICKA*

60-806 Poznań
ul. Rokietnicka 5D

tel.: +48 61 854 71 70
fax: +48 61 854 71 69

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ LEK. MED. MICHAŁA MODESTOWICZA

pt. „Przeżytnictwo glutaminergiczne w migrenie”

Uwagi wstępne

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. med. Michała Modestowicza pt. „Przeżytnictwo glutaminergiczne w migrenie” została przygotowana pod opieką naukową prof. dr hab. med. Wojciecha Kozubskiego, kierownika Katedry i Kliniki Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Szacuje się, że na migrenę cierpi około 11-12 procent populacji. Napad migreny, w którym migrenowemu bólowi głowy towarzyszą liczne objawy autonomiczne sprawia, że powodują one bardzo znaczną, choć przejściową niepełnosprawność. Stąd ciągłe dążenie do ustalenia patomechanizmu tej choroby jest zrozumiałe i niezmiernie wskazane. Patomechanizm migreny i napadu migrenowego nie jest do końca poznany. W ostatnich latach pojawiło się szereg dowodów wskazujących, że w migrenie istotną rolę może odgrywać zapalenie neurogenne, w którym dochodzi do wzajemnego oddziaływania układu nerwowego i immunologicznego. Obecność na leukocytach krwi obwodowej receptorów dla neuroprzeżytników wskazuje, że mogą one w bezpośredni sposób wpływać na funkcje tych komórek. Z drugiej strony obserwacje, że w leukocytach aktywne są szlaki metabolizmu związanego z przeżytnictwem glutaminergicznym czyni te komórki bardzo ciekawym dla neurologów obiektem badań, co ze powodu etycznych ograniczeń w pozyskaniu materiału biologicznego ludzkich komórek nerwowych otwiera nowe szlaki do badań.

Z związku z powyższym podjęty temat i zastosowany model pracy badawczej zasługuje na duże uznanie, nie jest to bowiem jedynie pole do rozważań teoretycznych ale próba dostarczenia nowych informacji ważnych dla opracowania nowych terapii tej patologii.

do

Ocena formalna pracy

Rozprawa doktorska ma formę 112-stronicowej monografii, włączając w to wykaz skrótów, spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografię oraz karty stosowanych kwestionariuszy. Układ rozdziałów i podrozdziałów jest typowy dla oryginalnych prac badawczych, z wyraźnym podziałem na wstęp, cele pracy, materiał, metodykę, wyniki, omówienie wyników i wnioski. Umieszczony na początku rozprawy spis skrótów jest bardzo przydatny w odbiorze pracy, ponieważ Doktorant stosuje ich aż 110. Wydaje się, że wprowadzenie wielu z nich jest zbyteczne, gdyż użyte są tylko raz. Ponadto skrót w tekście powinien być używany dopiero po jego wcześniejszym wyjaśnieniu, a nie w odwrotnej kolejności np. na str. 13. zastosowano skrót OUN, a jego wyjaśnienie pojawiło się dopiero na str. 16. Nie ma również potrzeby wielokrotnego wprowadzania wyjaśnień dla tych samych skrótów. Z kolei skróty użyte w tabelach i na rycinach powinny być, zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami edytorskimi, wyjaśnione w ich opisie. Praca zawiera 13 rycin i 9 tabel. Ryciny od 3 do 13 zawierają powtórzenie wyników zwartych w tabelach umieszczonych na wcześniejszych stronach manuskryptu. Trudno jest zatem zrozumieć sens ich wprowadzenia. Jeśli było nim scharakteryzowanie zaobserwowanych w badaniach modeli regresji liniowej, to należałoby je na rycinach precyzyjnie zdefiniować. W opinii recenzenta, na potrzeby przyszłych publikacji, powinno rozważyć się przereklamowanie niektórych tytułów podrozdziałów, które poprzez stosowanie skrótów bywają bardzo lakoniczne np. rozdział 3.2.3 „Badanie PBMC”, albo zawierają sformułowania co do których, w oparciu o przeprowadzone badania, doktorant nie ma podstaw się wypowiadać np. rozdział 4.4 „Badanie wpływu parametrów biochemicznych na wyniki skali klinimetrycznych i zmienne opisujące ból głowy”. Przeprowadzone badania upoważniają do wyciągania wniosków o związku pomiędzy tymi parametrami. Użyte słowo „wpływ” sugeruje zależność przyczynowo-skutkową, której w opinii recenzenta Doktorant nie badał. W pracy znajdują się wymagające korekty pojedyncze błędy edycyjne takie jak np. brak konsekwencji w zapisie *italikiem* nazw genów. Doktorant zebrał wartościowe i aktualne piśmiennictwo liczące aż 229 pozycji. Wybór piśmiennictwa jest trafny. Około 51% cytowanych prac pochodzi z recenzowanych czasopism zagranicznych z ostatnich 10. lat. Doktorant odwołuje się również do prac historycznych - najstarsze pochodzą z lat 1872-1873.

Mimo opisanych powyżej zastrzeżeń warsztat formalny Doktoranta należy ocenić jako dobry.

Ocena merytoryczna pracy

Wstęp

Wstęp pracy liczący 23 strony jest proporcjonalny w stosunku do pozostałych części dysertacji. Zawiera bardzo ciekawy rys historyczny badań nad migrenowymi bólami głowy oraz syntetyczne informacje na temat epidemiologii i patofizjologii migreny. W osobnym podrozdziale opisane są podstawy przebiegu glutaminergicznego, które w bardzo dobry sposób przygotowują do odbioru dalszych części pracy.

Lektura wstępu wskazuje na bardzo szeroką wiedzę Doktora na temat migreny, obejmującą zarówno obszary historii medycyny, patofizjologii, neurologii klinicznej jak i biologii molekularnej. Powinna stanowić podstawę do przygotowania bardzo ciekawej pracy poglądowej.

Cel badań

Cele pracy zostały sformułowane precyzyjnie. Prowadzone badania miały na celu: 1). ocenę aktywności układu glutaminergicznego w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej pacjentów leczonych z powodu migreny, 2). analizę zależności pomiędzy tą aktywnością a wynikami klinimetrycznej oceny ciężkości migreny oraz 3). określenie różnic w aktywności układu glutaminergicznego w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej chorych na migrenę w różnych fazach aktywności choroby. Cele te realizowano poprzez ocenę w tych komórkach aktywności i ekspresji glutaminazy, aktywności dyhydrogenazy glutaminianowej i dekarboksylazy glutaminianowej oraz ekspresję glutaminianu. Ponadto w surowicy pacjentów oznaczano stężenie receptora N-metylo-D-asparaginowego.

Materiał i metodyka badań

Do badań zakwalifikowano 59 osób. Grupę badaną stanowiło 31 pacjentów z migreną epizodyczną lub przewlekłą, leczonych przez lekarzy Katedry i Kliniki Neurologii UMP. Grupę kontrolną tworzyło 28 pacjentów, wśród których 12 nie zgłaszało występowania bólów głowy, a u 16 rozpoznano ból głowy o typie napięciowym. Doktorant nie określa precyzyjnie kryteriów włączenia i wyłączenia stosowanych dla grup kontrolnych. W badaniach wykorzystano dwa kwestionariusze oceny klinimetrycznej bólu głowy w polskiej wersji językowej MIDAS i HIT-6.

Analizy metabolizmu glutaminianu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej oraz ocenę stężenia NMDAR w surowicy przeprowadzono w Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii Katedry i Kliniki Neurologii UMP. Zastosowane metody badawcze wykorzystane do powyższych badań zostały właściwie dobrane, w przejrzysty sposób opisane z odniesieniem do odpowiednich pozycji literatury.

W rozdziale metody statystyczne nie podano z jakich testów nieparametrycznych Doktorant korzystał. Nie podano również jakich testów użyto do analizy korelacji. Doprecyzowania wymaga również, czy przed zastosowaniem testu t-studenta oceniano jednorodność wariancji oraz dlaczego do analiz przedstawionych w rozdziale 4.2 nie zastosowano testów odpowiednich dla wielokrotnych porównań? Przy tego typu analizach nie zaleca się wielokrotnego stosowania testów t-studenta. Uważa się, że np. test ANOVA, w takich sytuacjach, zwykle daje większą precyzję analizy.

Wyniki

Autor uzyskał ciekawe wyniki badań, które zostały przedstawione w sposób czytelny z wykorzystaniem 12 rycin i 9 tabel, które niestety nie mają swojego umocowania w tekście, co utrudnia jego odbiór. W charakterystyce demograficznej grupy kontrolnej zabrakło informacji o rozkładzie płci, gdy podzielono je na podgrupy pacjentów bez bólu głowy i z bólami głowy o typie napięciowym, a ostatecznie, taki podział był stosowany w szczegółowych analizach.

W przeprowadzonych analizach stwierdzono znamienne niższą aktywność dehydrogenazy glutaminianu w PBMC pacjentów z migreną w stosunku do pacjentów bez bólu głowy oraz obniżoną (na granicy istotności statystycznej) w stosunku do pacjentów z bólami głowy typu napięciowego. Analiza porównawcza badanych parametrów biochemicznych pomiędzy pacjentami z migreną w okresie iktalnym w porównaniu do okresu interiktalnego nie wykazała znamienych różnic. Należy podkreślić, że grupy te liczyły odpowiednio 4 i 5 pacjentów, co z pewnością rzutowało na otrzymane wyniki. Doktorant stwierdził, że ekspresja glutaminianu w PBMC była wprost proporcjonalna do aktywności dehydrogenazy glutaminianowej, a odwrotnie proporcjonalna do aktywności dekarboksylazy kwasu glutaminowego oraz aktywności o ekspresji glutaminazy. Ponadto Doktorant stwierdził ujemną korelację pomiędzy aktywnością dehydrogenazy glutaminianowej a zastosowanymi skalami z klinimetrycznymi HIT-6 i MIDAS, a także wieloma składowymi tych skal. Należy podkreślić, że przeprowadzone analizy korelacji zostały wykonane dla wszystkich badanych osób (łącznie dla grupy badanej i grupy kontrolnej) co budzi pewne wątpliwości. Na przykład zawarte w tabeli 5 dane korelacji całościowej oceny skali MIDAS i jej poszczególnych składowych z ekspresją glutaminianu, jak wynika z tabeli (n=58) została wykonana dla całej grupy. Czy wobec tego kwestionariusz oceny niepełnosprawności spowodowanej migreną (MIDAS) był stosowany również u pacjentów grupy kontrolnej bez bólu głowy?

W przeprowadzonych, z wykorzystaniem modelu regresji wielorakiej analizach związku pomiędzy badanymi parametrami biochemicznymi a wynikami przeprowadzonych ocen

klinimetrycznych Doktorant otrzymał ciekawe zależności, które jednak nie zostały poddane dyskusji oraz nie znalazły swojego odbicia w wyciągniętych wnioskach.

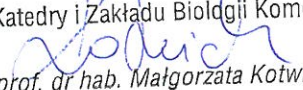
Dyskusja

Omówienie i dyskusja uzyskanych wyników jest przeprowadzona przez Doktoranta z właściwą dozą krytycyzmu. Doktorant prowadzi ją starannie, konfrontując własne wyniki z danymi z literatury. Jest ona polemiczna i wartościowa, na dobrym poziomie merytorycznym. Wydaje się jednak, że nie zachowano wystarczającej ostrożności w zakresie wnioskowania. Model badawczy, jaki zastosował Doktorant, nie upoważnia do wyciągania wniosków o zależności przyczynowo-skutkowej, a jedynie na formułowanie wniosków o występowaniu lub nie związku pomiędzy analizowanymi parametrami.

Podsumowanie

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska „Przeźnaczność glutaminergiczna w migrenie” lek. med. Michała Modestowicza jest wartościową pracą badawczą opartą na założeniach wynikających z najnowszej wiedzy na temat migreny. Uzyskane wyniki badań wnoszą cenne informacje pozwalające lepiej zrozumieć rolę przeźnaczności glutaminergicznej w etiopatogenezie migreny. Doktorant sprawnie porusza się w tematyce badawczej, ma poprawny warsztat pracy naukowej, umie zaplanować i wykonać badania, które pozwalają zweryfikować postawione hipotezy badawcze. Całość pracy świadczy o dobrej wiedzy ogólnej Doktoranta w reprezentowanej dziedzinie i dyscyplinie naukowej. Praca stanowi oryginalne, samodzielne i nowatorskie rozwiązanie problemu naukowego.

W związku z powyższym stwierdzam, że w mojej ocenie praca spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018r. Prawa o szkolnictwie wyższym i nauce oraz Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. o Przepisach wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wnioski o dopuszczenie lek. med. Michała Modestowicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Biologii Komórki

prof. dr hab. Małgorzata Kotwicka

Poznań, 7 listopad 2019r.