

Recenzja pracy
Wniosek o uposażenie

Prodziekan
Wydziału Lekarskiego
Os. Nauki

Małgorzata Pawłowska
prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska

Dr hab. n. med. Katarzyna Hojan prof. UM
Kierownik Zakładu Terapii Zajęciowej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Kierownik Oddziału Rehabilitacji Diennej
Wielkopolskie Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Poznaniu

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Monika Prylińska-Jaśkowiak „Analiza mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia (ang. myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome, ME/CFS)” w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne z Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

*Promotor prof. dr hab. Paweł Zalewski
Promotor pomocniczy: dr Sławomir Kujawski*

Podstawę opracowania przeze mnie recenzji stanowi otrzymane pismo od Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Prof. UMK dr hab. Katarzyny Sierakowskiej zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z dnia 26 czerwca 2023 roku oraz przekazana rozprawa doktorska

I. Ocena merytoryczna

Na podstawie art.187.1 ust. 3 ustawy z dnia 20.07.2018r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 poz.85 z późn. zm) rozprawa doktorska lek. med. Moniki Prylińskiej-Jaśkowiak „Analiza mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia (ang. myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome, ME/CFS)” ma formę monografii naukowej i obejmuje 211 stron.

Układ rozdziałów dysertacji doktorskiej jest typowy dla prac o charakterze empirycznym. Rozprawa doktorska składa się ze spisu treści, szeroko opisanego wprowadzenia, celu prowadzonej pracy naukowej, wykorzystanych metod i materiału, prezentacji wyników badań własnych, dyskusji, następnie wniosków, podsumowania zawierającego ograniczenia pracy, streszczeń w języku polskim i angielskim, piśmiennictwa, spisu tabel i rycin oraz aneksu. Całość pracy napisana została w sposób przejrzysty i zrozumiały.

II. Oryginalność i trafność podjętej tematyki pracy

Zespół przewlekłego zmęczenia (ZPZ; ang. *myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome*, ME/CFS) występuje z częstotliwością 0,2-0,4% w populacji osób dorosłych i charakteryzuje się poczuciem zmęczenia, nieadekwatnego do wykonanego

wysiłku, któremu towarzyszą inne objawy fizycznej niepełnosprawności co w konsekwencji może prowadzić do zmniejszenia aktywności społecznej i zawodowej oraz obniżenia jakości życia pacjentów i ich rodzin. Zainteresowanie badaczy tą jednostką chorobową jest znaczne, co potwierdza ilość badań naukowych na temat ME/CFS. Nadal jednak, etiologia choroby nie jest w pełni wyjaśniona, nie opracowano dotychczas swoistego markera biologicznego do wczesnej diagnostyki ME/CFS, jak również skutecznego leczenia przyczynowego tej choroby. Wśród przyczyn zespołu przewlekłego zmęczenia badacze wymieniają między innymi czynniki infekcyjne, immunologiczne, predyspozycje genetyczne, czy uszkodzenie mitochondriów, a także zaburzenia homeostazy mikrobiomu przewodu pokarmowego.

Przedstawiona do recenzji dysertacja stanowi oryginalną pracę badawczą dotyczącą analizy mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia, co może przyczynić się w przyszłości do opracowania nowych metod prewencji, diagnostyki i leczenia tego zespołu chorobowego.

Szeroko opisana we wstępie przez Doktorantkę problematyka zespołu przewlekłego zmęczenia, jego symptomatologia, epidemiologia, czynniki ryzyka, diagnostyka, podziały kliniczne oraz możliwe obecne strategie leczenia wskazują na konieczność dalszego podejmowania badań naukowych dotyczących tego zespołu w grupie pacjentów spełniających kryteria diagnostyczne zespołu przewlekłego zmęczenia (ME/CFS) na podstawie kryteriów Fukudy oraz kryteriów ME/ICC, co jest zgodne z aktualnymi publikacjami naukowymi.

Dotychczasowe, liczne badania potwierdziły, zainteresowanie naukowców mikrobiotą człowieka, co ma odzwierciedlenie w ilości publikacji naukowych, a także wpływ, jaki odgrywają zaburzenia jej składu na możliwość rozwoju różnych jednostek chorobowych, w tym na patogenezę ME/CFS. Zwraca uwagę duża częstość występowania u pacjentów z ME/CFS objawów z układu pokarmowego, takich jak m. in. bóle brzucha, zmiana rytmu wypróżnień, nudności, biegunki czy wzdęcia. U pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia znacząco częściej współwystępuje zespół jelita drażliwego (ZDJ; ang. *irritable bowel syndrome*, IBS). Wzrost nieprawidłowych populacji bakterii w jelitach, czyli dysbioza jelitowa, została jak do tej pory opisana w wielu chorobach, m.in. metabolicznych, gastroenterologicznych, autoimmunologicznych, onkologicznych, neurologicznych, co pokazuje jak duży i wielokierunkowy wpływ na organizm gospodarza mogą mieć zaburzenia składu mikrobioty jelitowej.

W związku z tym Doktorantka wysunęła hipotezę, że dysbioza jelitowa może uczestniczyć również w patogenezie ME/CFS, co było już tematem wielu badań naukowych jednak związek pomiędzy konkretnymi zaburzeniami w składzie mikrobioty jelitowej, a patogenezą zespołu przewlekłego zmęczenia nie został jak na razie jednoznacznie udowodniony. Również niewyjaśnioną kwestią pozostaje czy dysbioza jelitowa w ME/CFS jest zmianą pierwotną czy wtórną do rozwijających się objawów.

Dlatego w pracy Doktorantka podjęła się analizy mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia, co może mieć duże znaczenie w uzupełnieniu wiedzy na temat etiologii i patogenez tej choroby, a także może przyczynić się do poprawy jej diagnostyki. Udowodnienie związku dysbiozy jelitowej z rozwojem ME/CFS i precyzyjne określenie rodzaju zaburzeń jakościowych lub ilościowych mikrobioty jelitowej, może stać się wg Autorki potencjalnym punktem uchwytu w efektywnej terapii tego schorzenia. A przeprowadzenie badania może przyczynić się do lepszego zrozumienia roli mikrobiomu jelitowego w rozwoju zespołu przewlekłego zmęczenia, a także opracowania nowych metod prewencji, diagnostyki i leczenia ME/CFS. Celem dokładnej analizy zadania badawczego Doktorantka wyodrębniła następujące cele szczegółowe:

1. Analiza składu ilościowego i jakościowego mikrobiomu jelitowego u pacjentów z ME/CFS, w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej.
2. Ocena różnic w składzie mikrobiomu jelitowego u pacjentów z ME/CFS, w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej, ze względu na płeć i wiek.
3. Ocena zdolności do klasyfikacji mikrobiomu jelitowego pacjentów z ME/CFS w porównaniu do grupy kontrolnej, przy użyciu metod uczenia się maszynowego.
4. Porównanie mikrobiomu jelitowego pomiędzy grupą badaną i kontrolną na podstawie analizy sieciowej mikrobiomu jelitowego, dla sieci przeprowadzonej na podstawie ASV.
5. Ocena zależności między różnicami w składzie mikrobiomu jelitowego, a funkcjonowaniem autonomicznego układu nerwowego, funkcjonowaniem poznawczym oraz wybranymi objawami zespołu przewlekłego zmęczenia.

Doktorantka na podstawie celów sformułowała również cztery hipotezy badawcze, które przedstawiła w sposób zwięzły i klarowny:

- H1. Alfa-różnorodność mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia różni się w sposób istotny w porównaniu do osób zdrowych.
- H2. Beta-różnorodność mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia różni się w sposób istotny w porównaniu do osób zdrowych.
- H3. Czynniki wpływające na obraz kliniczny zespołu przewlekłego zmęczenia, takie jak płeć czy wiek pacjentów, są istotnie zależne od składu mikrobiomu jelitowego u pacjentów z ME/CFS.
- H4. Stopień nasilenia objawów zespołu przewlekłego zmęczenia, funkcjonowanie autonomicznego układu nerwowego oraz funkcjonowanie poznawcze są zależne od składu mikrobiomu jelitowego u pacjentów z ME/CFS.

W celu zgromadzenia materiału do analizy jako metodę Doktorantka wykorzystwała środki masowego przekazu (lokalne audycje radiowe, lokalne gazety oraz media społecznościowe) a następnie przesyłanie do potencjalnych odbiorców informacji o prowadzonym badaniu, które prowadzono od stycznia 2018 roku do marca 2019 roku.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu co Autorka potwierdza na końcu pracy kopią.

Do badania początkowo zgłosiło się 250 pacjentów z ME/CSF. W pracy doktorskiej prowadzono badania na grupie 27 pacjentów z grupy badanej i 15 z grupy kontrolnej, którzy wyrazili zgodę na wykonanie badania kału i dostarczyło próbki do badania. Autorka w sposób właściwy dla badań klinicznych przedstawiła schemat badania.

Doktorantka płynnie porusza się w trudnym zagadnieniu, jakim jest zespół przewlekłego zmęczenia stosując do oceny nasilenia objawów szerokiej gamy skal w tym: skali oceny wpływu zmęczenia (ang. *Fatigue Impact Scale*, FIS), ocenę nasilenia zmęczenia (ang. *Fatigue Severity Scale*, FSS), ocenę funkcjonowania autonomicznego układu nerwowego przy użyciu Task Force Monitor (TFM, CNSystems, Medizintechnik) oraz ocenę funkcji kognitywnych przy użyciu testu łączenia punktów – TMT A i B.

Autorka w swojej pracy skupiła szczególną uwagę na badaniu laboratoryjnym - analizie kału jako ważnego parametru dla pacjentów z ME/CSF. Doktorantka dokonała oceny różnorodności mikrobiomu poprzez sekwencjonowanie fragmentów genów 16S rRNA oraz ocenę Alfa- i Beta-różnorodności analizowanego mikrobiomu jelitowego. Poza tym w pracy dokonano oceny liczebności mikrobiomu jelitowego metodą qPCR (na aparacie LightCycler 480) przy użyciu pary primerów B969f i B1072r namnażających fragment genu 16S rRNA z ponad 90% znanych sekwencji (dane wg SILVA).

Zastosowane analizy statystyczne (w środowisku R) zostały dobrane odpowiednio do charakteru i liczności grup jak również ocenianych parametrów w poszczególnych pracach. Warto podkreślić bardzo dokładny opis przez Doktorantkę wykorzystanych metod statystycznych na poszczególnych etapach badania co jest rzadko spotykane w dysertacjach doktorskich.

Dokładny opis kryteriów badania oraz metodologia została dobrana również w sposób prawidłowy i na wysokim poziomie.

Wyniki badania zawierają dokładny opis charakterystyki grup badanych oraz odzwierciedlają szeroki zakres analizowanych parametrów laboratoryjnych, poszczególnych kwestionariuszy i zostały przedstawione w 13 tabelach i 17 rycinach wraz z właściwym komentarzem.

Dyskusja została poprowadzona na 39 stronach. Doktorantka prawidłowo odniosła swoje wyniki do prac naukowych innych autorów oraz podjęła próbę interpretacji własnych wyników na tle aktualnego stanu wiedzy. Lek. med. Monika Prylińska-Jaśkowiak cytuje pozycje z literatury naukowej stosownie do potrzeb niniejszej dysertacji. Dyskusja nie budzi zastrzeżeń, jest czytelna, skrupulatnie i systematycznie omawia uzyskane wyniki, co pozwala Autorce na wyciągnięcie wniosków, które podsumowują najważniejsze wyniki pracy i są odpowiedzią na stawiane hipotezy badawcze. Ostatecznie stwierdza, że dotychczas przeprowadzono stosunkowo niewiele badań naukowych dotyczących zaburzeń w składzie mikrobiomu jelitowego w ME/CFS a przeprowadzone badanie jest innowacyjne i w sposób istotny próbuje uzupełnić luki w wiedzy na temat dysbiozy jelitowej u pacjentów z ME/CFS,

w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej. Kryteria włączenia do badania zostały oparte na podstawie dwóch rodzajów kryteriów diagnostycznych (kryteriów Fukudy i kryteriów ME/ICC) co jest zgodne z najnowszymi doniesieniami naukowymi na temat ME/CFS i istotnie zwiększa prawdopodobieństwo zakwalifikowania do grupy badanej wyłącznie pacjentów z prawidłowo postawioną diagnozą. Kontynuowanie badań naukowych w tym temacie powinno przede wszystkim dążyć do precyzyjnego określenia zmian w składzie mikrobiomu, a następnie podjąć próbę identyfikacji markera biologicznego oraz metod leczenia ME/CFS na drodze zindywidualizowanej modyfikacji składu mikrobioty jelitowej. Na podstawie przeglądu literatury dokonanego w dysertacji można zauważyć, że pomiędzy pracami naukowymi na temat dysbiozy jelitowej w ME/CFS nie ma konsekwencji w zastosowanych kryteriach diagnostycznych służących do postawienia rozpoznania ME/CFS, badane grupy pacjentów zwykle są małe, a przeprowadzone badania różnią się między sobą metodologią wykorzystaną do sekwencjonowania mikrobiomu. Stosunkowo mała ilość badań naukowych na temat dysbiozy jelitowej w ME/CFS cały czas uniemożliwia na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków, czy wykazane zmiany składu drobnoustrojów przewodu pokarmowego stanowią przyczynę czy konsekwencję wystąpienia ME/CFS i czy są związane z którymkolwiek z kilku objawów wtórnych. Określenie jakościowych zmian składu mikrobiomu jelitowego w ME/CFS w prowadzonym badaniu stanowi początek do dyskusji nad udziałem tych zmian w zaburzeniu funkcjonowania mikrobiomu, zaburzeniu interakcji mikrobiomu z organizmem gospodarza, a w końcu w patogenezie choroby. Obecnie nie ma wystarczających informacji w literaturze naukowej na temat definicji zdrowego mikrobiomu, nadal brakuje informacji jakie szczepy bakterii są kluczowe dla pełnienia przez mikrobiom kluczowych funkcji i jakie są prawidłowe interakcje między mikrobiomem a gospodarzem. Pogłębienie wiedzy na temat funkcji metabolicznych i molekularnych mikrobiomu, a także jego oddziaływań i interakcji z organizmem gospodarza stanowi kluczowy kierunek dalszych badań naukowych, który umożliwi odniesienie wyników badań na temat dysbiozy i pomoże na ustalenie ich przydatności klinicznej.

Przeprowadzone badanie stanowi istotne uzupełnienie obecnego stanu wiedzy na temat zaburzeń w składzie mikrobiomu jelitowego w zespole przewlekłego zmęczenia, jednak nadal pozostaje pole do kontynuacji i rozszerzenia dalszych badań, przede wszystkim w celu bardziej precyzyjnego ustalenia zaburzeń składu mikrobiomu w populacji objętej ME/CFS, a także wpływu tych zaburzeń homeostazy mikrobiomu na odpowiedź organizmu. Jest to ważny kierunek badań, wpisujący się w dążenie do identyfikacji markera molekularnego dla ME/CFS i ułatwienia diagnostyki tej choroby, a także ustalenie potencjalnego punktu uchwytu dla terapii przyczynowej u pacjentów z ME/CFS.

W kolejnej części dysertacji lek. med. Monika Prylińska-Jaškowiak podsumowuje przeprowadzone badanie oraz opisuje ograniczenia badania, co jest wartościowym elementem pracy Doktorantki i świadczy o dużej świadomości jakości przeprowadzonego badania na tle innych badań na świecie.

B. Ocena uzyskanych rezultatów

Rozprawa doktorska lek. med. Moniki Prylińskiej-Jaśkowiak posiada poprawny charakter pracy badawczej, prezentuje szczegółowo wyniki w licznych tabelach i rycinach, co w przyszłości może zostać wykorzystane do publikacji uzyskanych wyników w czasopismach naukowych.

Doktorantka w przeprowadzonym badaniu wykazała, że w grupie pacjentów z ME/CSF wykazano istotnie statystycznie wyższą alfa-różnorodność mikrobiomu stolca w porównaniu do grupy kontrolnej, natomiast nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w zakresie współczynników różnorodności oraz równomierności mikrobiomu stolca między grupą badaną, a kontrolną. Poza tym Autorka wykazała istotne statystycznie różnice w zakresie beta-różnorodności mikrobiomu stolca między pacjentami z ME/CFS, a grupą kontrolną (przy wykorzystaniu PERMANOVY) lecz nie zaobserwowała istotnych statystycznie różnic w zakresie składu mikrobiomu stolca, w zależności od płci i wieku, między grupą badaną i kontrolną. Doktorantka stwierdziła jednak istotną zależność funkcjonowania autonomicznego układu nerwowego, funkcjonowania poznawczego oraz nasilenia zmęczenia ze składem mikrobiomu stolca porównywanych grup.

III. Ocena metodologiczna

1. Dobór literatury, umiejętności, wykorzystanie źródeł

Piśmiennictwo odnosi się aż do 403 pozycji, które w większości jest aktualne (tj. z ostatnich 5 lat), adekwatne do tematu podjętej pracy doktorskiej oraz prawidłowo zacytowane.

2. Poprawność formułowania problemów i hipotez

Cele badawcze zostały sformułowane prawidłowo, a wnioski odpowiadają na postawione cele pracy i znajdują poparcie w przedstawionych wynikach.

3. Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zastosowania

Opis metodyki pracy zawiera informacje niezbędne dla zorientowania się w sposobie przeprowadzania badania. Należy podkreślić, iż Doktorantka wykorzystwała metody diagnostyczne dające możliwość właściwej oceny zmęczenia poprzez badania laboratoryjne i użyła standaryzowane kwestionariusze. Warto przy tym podkreślić wykorzystanie przez badaczkę Task Force Monitor (TFM) do oceny funkcjonowania autonomicznego układu nerwowego. Opis zastosowanych przez Doktorantkę metod statystycznych odzwierciedla ich zastosowanie, i został bardzo dokładnie zaprezentowany.

4. Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Doktorantka posługuje się poprawnym słownictwem charakterystycznym dla prac naukowych. Praca doktorska napisana jest poprawnie pod względem formalno - językowym, stylistycznym.

IV. Wniosek końcowy

Przystępując do oceny całości stwierdzam, że praca doktorska *lek. med. Moniki Prylińskiej-Jaśkowiak* stanowi bardzo interesujący dorobek naukowy. Autorka w sposób właściwy przeprowadziła badania i wysunęła wnioski z uzyskanych wyników. Przedstawiona mi do recenzji dysertacja spełnia warunki kryteriów wyznaczonych przez aktualnie obowiązujące przepisy określone art.187 ustawy z dnia 20.07.2018 Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. z 2020 poz.85 z późn.zm) w związku z czym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika o przyjęcie dysertacji pt. „*Analiza mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia (ang. myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome, ME/CFS)*” jako rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie *lek. med. Moniki Prylińskiej-Jaśkowiak* do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Biorąc pod uwagę nowatorski charakter przeprowadzonych badań, oryginalny sposób oceny klinicznej pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia oraz zastosowanie innowacyjnej analizy statystycznej jak również możliwe wykorzystanie wyników w publikacji w czasopismach naukowych o wysokim wskaźniku wpływu **wnoszę o wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.**

Poznań, 8 sierpnia 2023 roku

9714785 | prof. UM dr hab. n. med. Katarzyna Hojan
specjalista rehabilitacji medycznej
tel 601 509 967



at 11:15 pm on 10/10/2010
by [redacted] on 10/10/2010

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej *lek. med. Moniki Prylińskiej-Jaśkowiak* „*Analiza mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia (ang. myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome, ME/CFS)*” z *Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu*

Promotor prof. dr hab. Paweł Zalewski
Promotor pomocniczy: dr Sławomir Kujawski

Uzasadnienie:

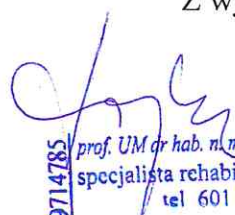
Rozprawa doktorska *lek. med. Moniki Prylińskiej-Jaśkowiak* „*Analiza mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia (ang. myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome, ME/CFS)*” ma formę manuskryptu spójnego tematycznie i przedstawia obiektywną, dokładną ocenę kliniczną oraz nowatorską analizę laboratoryjną materiału mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia jako niezwykle ważnego problemu we współczesnej medycynie.

Przeprowadzone przez *lek. med. Monikę Prylińską-Jaśkowiak* badanie jest innowacyjne i w sposób istotny próbuje uzupełnić luki w wiedzy na temat dysbiozy jelitowej u pacjentów z ME/CFS. Atutem badania jest fakt, że kryteria włączenia do badania zostały opracowane zgodnie z najnowszymi doniesieniami naukowymi na temat ME/CFS co istotnie zwiększa prawdopodobieństwo zakwalifikowania do grupy badanej wyłącznie pacjentów z prawidłowo postawioną diagnozą. Na potrzeby niniejszej dysertacji zastosowano najnowszą technologię 16S rRNA do sekwencjonowania mikrobioty, co pozwoliło na bardzo dokładną identyfikację większości drobnoustrojów z próbek materiału biologicznego pacjentów stolca), aż do poziomu wariacji sekwencji ASV. Określenie jakościowych zmian składu mikrobiomu jelitowego w ME/CFS stanowi początek do dyskusji nad udziałem tych zmian w zaburzeniu funkcjonowania mikrobiomu, zaburzeniu interakcji mikrobiomu z organizmem gospodarza, a w końcu w patogenezie choroby.

Przeprowadzone badanie stanowi istotne uzupełnienie obecnego stanu wiedzy na temat zaburzeń w składzie mikrobiomu jelitowego w zespole przewlekłego zmęczenia wpisujący się w dążenie do identyfikacji markera molekularnego dla ME/CFS i ułatwienia diagnostyki tej choroby, a także ustalenie potencjalnego punktu uchwytu dla terapii przyczynowej u pacjentów z ME/CFS.

W związku z tym **wnoszę o wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.**

Z wyrazami szacunku


9714785 / prof. UM dr hab. n. med. Katarzyna Hojan
specjalista rehabilitacji medycznej
tel 601 509 967

