

Dr hab.n.med. Beata Tarnacka, prof. NIGRIR

Klinika Rehabilitacji Narodowy Instytut Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji w Warszawie.

Recenzja rozprawy doktorskiej: „Analiza mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia (ang. myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome, ME/CFS)”

Monika Prylińska-Jaśkowiak

Rozprawa doktorska dotyczy bardzo ciekawego tematu analizy mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia. Temat dysertacji oceniam jako bardzo nowatorski.

Rozprawa zawiera 211 stron, 25 rycin, 23 tabele, kwestionariusze-ankiety, 403 pozycje piśmiennictwa głównie obcojęzyczne, w przewadze anglojęzyczne. Podzielona została na 12 rozdziałów włączając streszczenie, aneks, spis rycin i inne.

We wprowadzeniu; najobszerniejszej części dysertacji Autorka bardzo dokładnie przybliży zespół przewlekłego zmęczenia zaczynając od definicji, po diagnostykę i postępowanie lecznicze; następnie równie dokładnie opisuje mikrobiotę jelitową. Dokonuje też jej charakterystyki ogólnej, przybliży jej związek z przewlekłym zmęczeniem, opisuje również dysbiozę w zespole przewlekłego zmęczenia i uzasadnia w sposób rzeczowy dlaczego podjęła się badań naukowych nad tym tematem.

Rozdział dotyczący celów pracy jest jasno zdefiniowany.

Rozdział dotyczący materiału i metody pracy zawiera sprecyzowane kryteria włączenia i wyłączenia, na rycinie 7 opisano też sposób randomizacji chorych; ponieważ wystąpiła znaczna utrata chorych w procesie randomizacji bardziej szczegółowo opisałabym co było tego przyczyną. W podrozdziale „metody oceny funkcji poznawczych” warto by było dopisać jakimi kryteriami Autorka się kierowała przy wyborze testów do diagnostyki tych zaburzeń, dlaczego

wybrała test łączenia punktów. Należy bowiem podkreślić, że zaburzenia kognitywne w zespole charakteryzują się dużą różnorodnością a także piśmiennictwo dużą rozbieżnością wyników dotyczących dysfunkcji poznawczych w CFS, co być może spowodowane jest niejednorodnością w przejawianiu obiektywnych objawów.

Następnie autorka dokładnie omawia metodę oceny różnorodności i liczebność mikrobiomu jelitowego.

Rozdział 4. czyli „Wyniki”, stanowi obszerną część pracy. Analizie poddano 27 pacjentów z ME/CFS oraz 15 zdrowych osób z grupy kontrolnej. Autorka charakteryzuje grupę badaną, objawy kliniczne oraz nasilenie symptomów w grupie chorych; w porównaniu ilościowego składu mikrobiomu jelitowego między pacjentami z ME/CFS, a grupą kontrolną. Głównym wynikiem jest stwierdzenie, że nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w zakresie różnorodności i równomierności mikrobiomu w zakresie badanych grup, jedynie stwierdzono różnice w zakresie obfitości gatunkowej mikrobiomu. Pacjenci z ME/CFS charakteryzowali się istotnie wyższym bogactwem gatunkowym mikrobiomu, Następnie Autorka przedstawia ilość różnych wariantów sekwencji w mikrobiomie jelitowym w analizowanych grupach. W zakresie mikrobiomu stolca na poziomie gromad, u pacjentów z ME/CFS wykazano mniejszą obfitość Firmicutes, Actinobacteria oraz Proteobacteria i gromad rzadkich niż w grupie kontrolnej; a przy analizie składu jakościowego mikrobiomu stolca na poziomie rodzaju stwierdzono proporcjonalnie większą obfitość bakterii z rodzaju Bacteroides, Alistipes i Ruminococcaceae u pacjentów z ME/CFS w porównaniu do grupy kontrolnej. Autorka dokonała też oceny (ważności) poszczególnych wariantów sekwencji ampliconu (ASV) w grupie ME/CFS w porównaniu do grupy kontrolnej. Oceniano też skład mikrobioty jelitowej u pacjentów z ME/CFS, ze względu na płeć i wiek. Dalej Autorka przedstawia wyniki porównania wydajności modelu losowego drzewa klasyfikacyjnego w klasyfikacji pacjentów z ME/CFS w porównaniu do grupy kontrolnej oraz wyniki analizy sieciowej dla sieci stworzonej na podstawie wariantów sekwencji ASV; wynikiem wartym jeszcze podkreślenia jest wytypowanie trzech rodzajów bakterii jelitowych, jako najbardziej różnicujących chorych z ME/CFS od osób zdrowych, a mianowicie bakterii z rodzajów Alistipes, Odoribacter oraz Ruminococcaceae. Na koniec Autorka dokonuje korelacji klinicznej porównując mikrobiom w grupie pacjentów z ME/CFS i osób z grupy kontrolnej w zależności od wieku, płci czy funkcjonowania autonomicznego

układu nerwowego, funkcjonowania poznawczego i poziomu zmęczenia. Uwagę zwraca bardzo staranne przedstawienie graficzne danych.

W części 5. dotyczącej „Dyskusji” Autorka sugeruje się, że dysbioza jelitowa, może brać udział w patogenezie zespołu na drodze specyficznych oddziaływań i produkcji zmienionych produktów metabolizmu, co dalej może prowadzić do rozszczelnienia komórek nabłonka jelitowego i uszkodzenia bariery jelitowej prowadząc do rozwoju tzw. zespołu nieszczelnego jelita (ang. 120leaky gut syndrome); dalej umożliwia ten proces migrację patogenów oraz produktów ich metabolizmu (m.in. bakteryjnego lipopolisacharydu - LPS) przez ścianę jelita, do krążenia ustojowego czy okolicznych węzłów chłonnych przyczyniając się do przewlekłej aktywacji układu immunologicznego, wzrostu produkcji cytokin prozapalnych i rozwoju stanu zapalnego jelit. Proces ten dalej uruchamia kaskadę doprowadzając do nasilenia przepuszczalności ścian jelit, wpływając na zmianę stężenia neurotransmiterów syntetyzowanych przez niektóre drobnoustroje mikrobioty jelitowej i zmianę sygnałów nerwowych przekazywanych do wewnętrznego układu nerwowego jelit. Dokonuje też bardzo dokładnego i opartego na najnowszej literaturze przeglądu badań naukowych, dotyczących różnic w składzie ilościowym i jakościowym mikrobiomu u pacjentów z ME/CFS, w porównaniu do osób zdrowych, konkludując, że wyniki badań naukowych z literatury są częściowo zbieżne z różnicami w składzie jakościowym mikrobiomu wykazanymi w badaniu własnym. Autorka następnie dokonuje dokładnej charakterystyki trzech rodzajów bakterii jelitowych, które różnicują chorych z ME/CFS od osób zdrowych, a czyli bakterie z rodzajów *Alistipes*, *Odoribacter* oraz *Ruminococcaceae*, które mają potencjalny wpływ na wiele szlaków metabolicznych w organizmie gospodarza, oraz przybliży ich rolę w patogenezie różnych chorób. Autorka dalej opierając się na bardzo współczesnych badaniach omawia uzyskane w badaniu własnym wyniki z dostępną literaturą naukową na temat dysbiozy jelitowej w innych chorobach jak depresja, fibromialgia, choroby jelit, wątroby czy choroby otępienne. Autorka analizuje też mikrobiom jelitowy w stosunku do wieku, płci czy rasy. Bardzo ciekawie ujęte są również zagadnienia dotyczące zależności między mikrobiomem stolca a funkcjonowaniem poznawczym pacjentów, nasileniem objawów oraz wpływem diety na różnorodności mikrobioty jelitowej. W części końcowej autorka omawia również dane z literatury dotyczące probiotykoterapii również w ME/CFS oraz innych metod leczniczych jak przeszczepienie (transplantacja) mikrobioty jelitowej. Wnioski napisane są poprawnie, wysoko oceniam również część dotyczącą ograniczeń pracy.

Praca zakończona jest streszczeniami w języku polskim i angielskim napisanym prawidłowo oraz wykazem skrótów. Piśmiennictwo jest bardzo liczne i prawidłowo dobrane.

Podsumowanie

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest badaniem innowacyjnym; jednym z nielicznych na temat różnic w składzie ilościowym i jakościowym mikrobiomu jelitowego, a także dotyczącym tematyki związku mikrobiomu z poszczególnymi objawami ME/CFS. Badanie to w sposób istotny uzupełnia współczesną wiedzę na temat dysbiozy jelitowej w ME/CFS. Jak podkreśla Autorka, badanie jest pierwszym na świecie, porównaniem mikrobiomu jelitowego pacjentów z ME/CFS i zdrowej grupy kontrolnej na podstawie analizy sieciowej dla sieci utworzonej na podstawie ASV mikrobiomu jelitowego analizowanych grup.

Podsumowując uważam, że przedstawiona do recenzji praca pt. „Analiza mikrobiomu jelitowego u pacjentów z zespołem przewlekłego zmęczenia (ang. myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome, ME/CFS)” spełnia wymogi stawiane rozprawie doktorskiej na stopień naukowy doktora nauk medycznych, przeto mam zaszczyt złożyć wniosek do Rady Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jeśli praca spełnia wymogi ustalone przez Uczelnię o wyróżnienie rozprawy, to rekomenduję takie postępowanie.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.187 Ustawy 2.0 z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2020 poz.85)

Warszawa 17.09.2019r.

Beata Tarnacka

WYDZIAŁ REHABILITACJI
Klinika Geriatrii, Gerontologii
i Rehabilitacji
ul. Szartarska 1, 02-637 Warszawa
www.wspartanska.pl