

Dr hab. n. med. Mirosław Bik-Multanowski, prof. UJ
Kierownik Zakładu Genetyki Medycznej
Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum
Ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków

Kraków, 16.01.2020

Recenzja pracy doktorskiej
mgr Joanny Żółkowskiej

„Ocena tolerancji fenyloalaniny u ciężarnych z fenyloketonurią stosujących dietę niskofenyloalaninową od okresu okołokoncepcyjnego”

Fenyloketonuria jest jednym z najczęstszych i najlepiej poznanych wrodzonych błędów metabolizmu. Przyczyną choroby jest hiperfenyloalaninemia – podstawowy, biochemiczny objaw fenyloketonurii – występująca przy braku lub znacznym zmniejszeniu aktywności hydroksylazy-4-fenyloalaninowej, enzymu katalizującego konwersję fenyloalaniny do tyrozyny. Podstawowym klinicznym objawem nieleczzonej fenyloketonurii jest przewlekłe uszkodzenie mózgu prowadzące do niepełnosprawności intelektualnej.

Fenyloketonuria jest przykładem wrodzonej choroby metabolicznej, która z powodzeniem poddaje się leczeniu. Dla człowieka fenyloalanina jest aminokwasem egzogennym, co umożliwia kontrolę jej zawartości w organizmie. Dzięki temu dieta niskofenyloalaninowa może być stosowana jako metoda lecznicza w fenyloketonurii. Należy zaznaczyć, że konsekwentne stosowanie diety gwarantuje prawidłowy rozwój intelektualny pacjenta. Ogromnym problemem klinicznym jest natomiast niebezpieczeństwo wystąpienia tzw. zespołu matczynej fenyloketonurii. W przypadku zajścia w ciążę przez kobietę chorą na fenyloketonurię niezbędne jest utrzymywanie stężenia fenyloalaniny w surowicy na bardzo niskim poziomie. Matczyna fenyloalanina jest bowiem aktywnie transportowana przez łożysko a powstający przezłożyskowy gradient hiperfenyloalaninemii wywiera teratogeny wpływ na zarodek i płód. W konsekwencji u dziecka może wystąpić niedorozwój mózgu, wrodzona wada serca i inne wady narządowe. Powyższe zaburzenia noszą wspólną nazwę zespołu matczynej fenyloketonurii. Niestety ze względu na duże trudności z utrzymaniem przez matkę

niezbędnej w trakcie ciąży, bardzo restrykcyjnej diety, zespół ten występuje w naszym kraju u około 50% dzieci matek z fenyloketonurią (około 10-20 przypadków rocznie).

W przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej mgr Joanna Żółkowska podjęła się analizy zmienności indywidualnej tolerancji fenyloalaniny u ciężarnych pacjentek z fenyloketonurią. Zagadnienie to jest bardzo istotne klinicznie ze względu na brak precyzyjnych zaleceń co do stopnia restrykcyjności diety u pacjentek z tej grupy i duże trudności praktyczne dotyczące prowadzenia pacjentek w tym okresie, wynikające z dynamicznych zmian tolerancji fenyloalaniny. Jak już wspomniałem, brak skutecznej kontroli hiperfenyloalaninemii u matki stwarza ogromne zagrożenie nieodwracalnym uszkodzeniem mózgu nienarodzonego dziecka. Prowadzenie badań mających na celu wypracowanie bardziej precyzyjnych metod terapeutycznych dla pacjentek z fenyloketonurią w trakcie ciąży jest więc bardzo aktualne, atrakcyjne poznawczo i praktyczne.

Przekazana mi do recenzji praca została zrealizowana w Poradni Chorób Metabolicznych Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie pod kierunkiem dr hab. Konrada Kamila Hozyasza. Jest odzwierciedleniem dwudziestopięcioletniego doświadczenia klinicznego Doktorantki, uzyskanego w trakcie pracy w Instytucie Matki i Dziecka – wiodącym ośrodku diagnostyki i leczenia pacjentów z fenyloketonurią. Jest też kontynuacją tradycji badawczej w tej dziedzinie, zapoczątkowanej w Instytucie Matki i Dziecka jeszcze w latach 60-tych XX wieku przez prof. Barbarę Cabalską.

Praca razem z załącznikami ma objętość 79 stron i charakter monotematycznego cyklu pięciu artykułów opublikowanych w latach 2017 – 2019 w czasopismach: *Pediatrics* i *Medycyna Rodzinna*, *Developmental Period Medicine*, *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, *International Journal of Reproductive BioMedicine* i *Pielęgniarstwo i Zdrowie Publiczne*. Cztery spośród wymienionych czasopism są indeksowane w bazie Scopus. Doktorantka jest pierwszym autorem w czterech i drugim w jednym spośród powyższych artykułów, co w połączeniu ze zgodnymi oświadczeniami współautorów dokumentuje wiodący wkład koncepcyjny mgr Joanny Żółkowskiej oraz jej wkład pracy w badania będące podstawą dysertacji. Pierwsza z publikacji ma charakter poglądowy, kolejne prezentują dane oryginalne. Charakterystyka formalna i zawartość merytoryczna cyklu artykułów będącego podstawą przedstawionej dysertacji odpowiada zatem wymaganiom stawianym pracom doktorskim.

Na początku rozprawy doktorskiej Autorka umieściła podsumowanie wykonanych badań, mające charakter wprowadzenia do załączonych artykułów. W pierwszej kolejności w sposób syntetyczny przedstawiła podstawowe problemy związane z patogenezą zespołu matczynej fenyloketonurii i jego prewencją. Słusznie podkreśliła charakter zespołu jako embrio-fetopatii, której prewencja wymaga znacznej elastyczności terapeutycznej w związku z osobniczo różną wielkością płodowo-matczynego (łożyskowego) gradientu stężeń fenyloalaniny, wahającego się od 1,2 do 1,9 oraz w związku z dynamicznymi zmianami tolerancji fenyloalaniny w trakcie trwania ciąży. Następnie przedstawione zostały cele przeprowadzonych badań. Zostały one sformułowane w sposób jasny i precyzyjny. Autorka skoncentrowała się na dokładnej, długofalowej ocenie dynamiki tolerancji fenyloalaniny u ciężarnych pacjentek z fenyloketonurią, biorąc pod uwagę między innymi stopień wyrównania metabolicznego przed ciążą, genotyp pacjentek, obecność ciąży pojedynczej lub bliźniaczej oraz kolejność ciąży. Zastosowana metodyka wymagała sporego nakładu pracy. Analizy prowadzono w oparciu o detaliczne dane z dzienniczków żywieniowych prowadzonych przez pacjentki, uzyskiwane w trakcie osobistych spotkań z pacjentkami. Doktorantka przeanalizowała dane uzyskane w trakcie prowadzenia 33 ciąż. Liczba ta jest stosunkowo wysoka biorąc pod uwagę dużą zmienność kliniczną przebiegu ciąż u pacjentek z fenyloketonurią i przyjęte dosyć restrykcyjne kryteria włączenia do badania.

W wyniku prowadzonych badań Autorka generalnie udokumentowała istnienie znacznych różnic w dynamice tolerancji fenyloalaniny w ciąży u pacjentek z identycznymi mutacjami oraz pomiędzy kolejnymi ciążami u tych samych pacjentek. Wyniki zostały podsumowane w pięciu, może nieco zbyt obszernych wnioskach.

Pierwsza z przedstawionych prac, w której Doktorantka jest autorem pierwszym i jednocześnie korespondującym, stanowi systematyczną prezentację zasad dietetycznej prewencji zespołu matczynej fenyloketonurii. Artykuł jest oparty o dane z piśmiennictwa światowego, jednak bazuje również na długoletnim, unikalnym w skali Polski doświadczeniu mgr Joanny Żółkowskiej zdobytym w trakcie pracy z pacjentami chorymi na fenyloketonurię w Instytucie Matki i Dziecka. Autorka zwraca uwagę na wspomniany wcześniej brak precyzyjnych rekomendacji dietetycznych w zakresie dziennej podaży fenyloalaniny u pacjentek z fenyloketonurią w trakcie ciąży.

Druga z załączonych prac, opublikowana w *Developmental Period Medicine*, prezentuje bardzo ciekawe i unikalne w piśmiennictwie światowym obserwacje

dotyczące dynamiki tolerancji fenyloalaniny w trakcie kolejnych, pojedynczych i bliźniaczych ciąż u tych samych pacjentek z fenyloketonurią. Autorka precyzyjnie udokumentowała obecność zaskakujących różnic dotyczących metabolizmu fenyloalaniny pomimo bardzo podobnej charakterystyki klinicznej pacjentek. W tym miejscu warto podkreślić dużą ilość interesujących danych zawartych w tabelach i rycinach będących częścią pracy, jak również skrupulatnie przeprowadzoną analizę czynników antropometrycznych i żywieniowych.

Praca trzecia mająca nominalnie charakter listu do redakcji ma w rzeczywistości objętość, strukturę i zawartość odpowiadającą pracy pełnotekstowej. Zaprezentowane dane są obszerne a wyniki bardzo interesujące i nawiązują do wyników z drugiej pracy. Podobnie, wyniki prac nr 4 i 5 uzupełniają obserwacje przedstawione wcześniej a obie prace zawierają znaczącą ilość danych oryginalnych. Dyskusja we wszystkich omówionych wyżej pracach jest poprowadzona prawidłowo i oparta o aktualne dane z piśmiennictwa.

Podsumowując, w przedstawionym ciągu prac, poprzez dokładną analizę danych obserwacyjnych uzyskanych w trakcie wielomiesięcznej pracy z ciężarnymi pacjentkami z fenyloketonurią, Doktorantka wykazała, że czynniki płodowe lub dotychczas nieanalizowane czynniki środowiskowe wydają się znacząco wpływać na dynamikę tolerancji fenyloalaniny. Dalsze, najlepiej wielośrodkowe badania tego zagadnienia wydają się bardzo potrzebne ze względu na wagę problemu skutecznej prewencji zespołu matczynej fenyloketonurii w Polsce i w świecie. Należy podkreślić, że nie będąc z wykształcenia lekarzem, Autorka bez problemu poradziła sobie z prezentacją niezbędnych aspektów klinicznych, świetnie orientując się w strategii diagnostycznej i leczeniu pacjentów z fenyloketonurią.

Z obowiązku recenzenta powinienem wspomnieć o pewnych, niewielkich niedociągnięciach omawianej dysertacji, dotyczących głównie aspektów związanych z edycją i graficzną prezentacją zawartych w niej treści:

- W spisie treści brakuje numerów stron
- Rozdzielczość odbitek niektórych z załączonych prac jest niezbyt dobra
- Legendy rycin w drugiej pracy są niejednoznaczne, co utrudnia ich zrozumienie.

Dodatkowo, w drugiej pracy występuje pomyłka, która prawdopodobnie powstała na etapie końcowej edycji tekstu artykułu – przytoczone ryzyko odziedziczenia zmutowanego genu *PAH* od nosiciela jest błędne, w rzeczywistości wynosząc nie 1:120

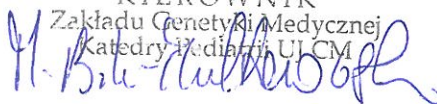
lecz 1:2. W kontekście ryzyka wystąpienia fenyloketonurii u dziecka matki z tą chorobą warto również wspomnieć o zjawisku tzw. selekcji uwalniającej, mogącej wpływać na zwiększenie populacyjnej częstości fenyloketonurii w ostatnich latach. Należy też zauważyć, że wspomniane w drugiej pracy zwiększenie częstości ciąż wielopłodowych w wyniku stosowania procedur wspomaganego rozrodu raczej nie dotyczy Polski, ponieważ zalecane w Polsce procedury w zasadzie nie przewidują jednoczasowego transferu kilku zarodków.

W zasadzie nie mam innych uwag do przedstawionej mi rozprawy doktorskiej. Badania zostały wykonane rzetelnie, z dużym nakładem pracy, a całość napisana z dbałością o szczegółowe przedstawienie problemu oraz dobre udokumentowanie i krytyczną analizę uzyskanych wyników.

Doświadczenie zawodowe i umiejętności praktyczne stawiają Autorkę w gronie ekspertów w zakresie leczenia fenyloketonurii w Polsce. Uważam, że przedstawione wyniki powinny stanowić punkt wyjścia do badań wieloośrodkowych, stanowiących jedyny sposób wypracowania praktycznych rekomendacji dotyczących prowadzenia pacjentek z fenyloketonurią w trakcie ciąży i skutecznej prewencji dramatycznego klinicznie zespołu matczynej fenyloketonurii.

Przedstawiona mi do recenzji praca spełnia w moim odczuciu wymogi stawiane rozprawom doktorskim w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i kwalifikuje mgr Joannę Żółkowską do nadania stopnia doktora nauk medycznych. Zwracam się zatem do Rady Naukowej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie o dopuszczenie mgr Joanny Żółkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Mirosław Bik-Multanowski, prof. UJ

KIEROWNIK
Zakładu Genetyki Medycznej
Katedry Pediatrii ULCM


dr hab. Mirosław Bik-Multanowski