UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

III KATEDRA PEDIATRII

KLINIKA PNEUMONOLOGII, ALERGOLOGII DZIECIĘCEJ I IMMUNOLOGII KLINICZNEJ

ul. Szpitalna 27/33
60-572 Poznań

tel.: 61 8491313
fax: 61 8480111
e-mail: klinikapad@skp.ump.edu.pl

Dr hab. n. med. Irena Wojsyk-Banaszak
Klinika Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej
III Katedra Pediatrii
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 05.10.2020

**Recenzja Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych**

Mgr Magdaleny Aleksandry Postek

pt. „Rola N2MBW – wypłukiwania azotu metodą wielokrotnych oddechów w badaniach czynnościowych płuc u dzieci chorych na mukowiscydozę."

Mukowiscydoza jest najczęstszą wśród rasy kaukaskiej wieloukładową chorobą monogenową, dziedziczoną w sposób autosomalnie recesywny. W Polsce żyje około 2000 osób chorych na mukowiscydozę, a rocznie, w większości w wyniku prowadzonych badań przesiewowych diagnozowanych jest 80 nowych chorych. U podstaw choroby leży mutacja genu kodującego białko CFTR (przezbłonowy regulator przewodnictwa w mukowiscydozie ang. *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator),* zlokalizowanego na chromosomie 7q31.3. Białko CFTR znajduje się na powierzchni szczytowej komórek nabłonkowych w układzie oddechowym, pokarmowym i rozrodczym oraz w gruczołach wydzielniczych. Nieprawidłowa funkcja białka CFTR lub jego brak prowadzą do zaburzeń w składzie elektrolitowym środowiska wewnątrz dróg oddechowych. Zaleganie gęstego śluzu w drogach oddechowych i uszkodzenie klirensu śluzowo-rzęskowo w połączeniu z defektami odpowiedzi immunologicznej prowadzi do przewlekłego zakażenia i stanu zapalnego, a w konsekwencji nawracających epizodów zaostrzeń

choroby oskrzelowo-płucnej, której powikłania stanowią w ponad 80% przyczynę zgonu chorych.

W monitorowaniu przebiegu choroby oskrzelowo-płucnej oraz rozpoznawaniu jej zaostrzeń niezwykle istotną rolę pełnią badania czynnościowe układu oddechowego: spirometria, oscylometria impulsowa, bodypletyzmografia, oraz coraz powszechniej stosowane od kilkunastu lat na świecie badanie wypłukiwania azotu metodą wielokrotnych oddechów. W piśmiennictwie polskich autorów, z wyjątkiem prac z Kliniki Mukowiscydozy IMiD Oddziału Chorób Płuc SPZOZ im. Dzieci Warszawy w Dziekanowie Leśnym z udziałem Doktorantki brakuje opracowań dotyczących zastosowania metody N2MBW u dzieci chorych na mukowiscydozę. W tym aspekcie należy podkreślić wartość rozprawy doktorskiej, która uzupełnia lukę badawczą w tej dziedzinie badań czynnościowych u dzieci chorych na mukowiscydozę oraz opisuje nowe możliwości monitorowania układu oddechowego pacjentów.

Praca doktorska jest obszerna, liczy łącznie z piśmiennictwem i załącznikami 137 stron, z tego 26 stron stanowi „Wstęp", 1 strona „Cele pracy" „Grupy badawcze oraz metodyka pracy – 8 stron, „Wyniki" – 39 stron, „Dyskusja" – 20 stron, „Wnioski" 2 strony, zamieszczono też streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel i rycin, 1 załącznik oraz wykaz stosowanych skrótów i piśmiennictwa liczącego 136 pozycji literaturowych. Została zachowana właściwa proporcja między poszczególnymi częściami rozprawy doktorskiej. Cytowane piśmiennictwo jest dobrze dobrane, aktualne. Podział rozdziałów: „Wstęp", „Wyniki" i „Dyskusja" na podrozdziały czyni opracowanie przejrzystym Na uznanie zasługuje jasny i przejrzysty styl pracy, a zilustrowanie wyników rycinami i tabelami ułatwia zrozumienie tematu. Praca jest napisana starannie, a drobne uchybienia edytorskie nie umniejszają jej wartości.

Rozprawę doktorską rozpoczyna syntetyczny Wstęp, który wprowadza w zagadnienia poruszane w pracy. Na początku Doktorantka opisuje rys historyczny i patofizjologiczne uwarunkowania choroby. Przedstawienie budowy dróg oddechowych poprzedza szczegółowy opis badań czynnościowych stosowanych w diagnostyce układu oddechowego u chorych na mukowiscydozę. Porównując poszczególne metody badania Doktorantka zwraca uwagę na komplementarność uzyskanych dzięki poszczególnym badaniom informacji dotyczących różnych pięter układu oddechowego oraz na możliwość zastosowania poszczególnych badań u dzieci z uwzględnieniem wymaganej współpracy. Dane z piśmiennictwa zawarte we Wstępie wskazują na bardzo dobrą znajomość zagadnienia i merytoryczne przygotowanie Doktorantki do prowadzenia badań.

Cel pracy jest rozwinięciem tytułu rozprawy. Cele szczegółowe przedstawiono w siedmiu punktach. Wydaje się, że sformułowanie pierwszego z celów szczegółowych jest zbyt ogólne.



ul

Ocena wskaźnika LCI może być przydatna w diagnostyce zmian w układzie oddechowym u chorych na mukowiscydozę, a nie w diagnostyce choroby, dla rozpoznawania której obowiązują opublikowane i zwalidowane kryteria diagnostyczne.

Kolejny rozdział stanowi charakterystyka grup badanych, w tym szczegółowe kryteria włączenia i wyłączenia z badania zarówno pacjentów jak i zdrowych ochotników oraz stosowanych metod. W tej części znajduje się również adnotacja o zgodzie Komisji Bioetycznej przy Instytucie Matki i Dziecka w Warszawie na przeprowadzenie badania.

Rozdział „Wyniki" zasługuje na wyróżnienie ze względu na niezwykle uporządkowany i jasny opis wyników przeprowadzonych badań. Wyniki przedstawione są w 15 tabelach (7-21) i na 31 rycinach (9-39) w sposób uporządkowany i logiczny. Na czytelność tabel korzystnie wpłynęłoby umieszczenie poziomu istotności statystycznej wszystkich porównywanych wyników (np. tabele 7, 10,14,19,20,21). Bardzo dobrym rozwiązaniem jest prezentacja na rycinach tylko istotnych statystycznie różnic.

Doktorantka wykazała, że średnia wartość wskaźnika LCI była statystycznie istotnie wyższa w grupie chorych na mukowiscydozę w porównaniu z grupą kontrolną. Doktorantka przeprowadziła również w grupie chorych na mukowiscydozę analizę porównawczą wyników badań czynnościowych wykonanych techniką spirometrii, oscylometrii impulsowej oraz bodypletyzmografii z wynikami badania wykonanego techniką wypłukiwania azotu metodą wielokrotnych oddechów. Doktorantka pokazała statystycznie istotne zależności pomiędzy wskaźnikiem LCI, a parametrami spirometrycznymi : $FEV_1$, FVC, wskaźnikiem Tiffenau, $MEF_{25}$, $MEF_{50}$ i $MEF_{75}$, wskaźnikami reaktancji przy częstotliwości 5Hz oraz rezystancji przy 5 i 20 Hz, a także wskaźnikami rozdęcia płuc (RV, RV/TLC) w badaniu bodypletyzmografii. Co szczególnie interesujące, po podziale grupy badanej na pacjentów z obturacją i bez obturacji zależność była nadal widoczna dla parametrów spirometrycznych: $MEF_{25}$ oraz wskaźnika rezystancji przy częstotliwości 5Hz (przedstawionej jako %wartości należnej) i 20Hz (wartość bezwzględna) oraz reaktancji przy 5 Hz (% wartości należnej) w grupie chorych bez obturacji i dodatkowo dla MEF 50 w grupie chorych z obturacją. W kolejnym podrozdziale Doktorantka wskazuje na zależność wskaźników rezystancji R5 i R20 uzyskanych w badaniu oscylometrii impulsowej z parametrem $S_{cond}$ który opisuje zjawiska zachodzące podczas oddychania w przewodzącej strefie płuc. Podobnej zależności nie wykazano dla żadnych parametrów oscylometrycznych, a parametru $S_{acin}$, który opisuje wentylację w strefie dyfuzyjnej.

Bardzo ciekawa jest analiza wybranych parametrów badań czynnościowych układu oddechowego podczas zaostrzenia choroby oskrzelowo-płucnej. Doktorantka wykazała, że średnia zmiana wskaźnika LCI na początku zaostrzenia wynosi 11,5% w porównaniu z badaniem

wykonanym w okresie stabilnym, co wskazuje na rolę tego parametru w podejmowaniu decyzji klinicznych odnośnie wdrożenia wczesnej terapii zaostrzeń. Interesującym spostrzeżeniem jest brak wpływu statusu mikrobiologicznego na wartość wskaźnika LCI, co zdaniem recenzentki może wynikać z małej liczebności (50 osób) podgrupy chorych, u których przeprowadzono analizę.

W rozdziale „Dyskusja" przeanalizowano znaczenie badania wypłukiwania azotu metodą wielokrotnych oddechów w odniesieniu do istniejącego piśmiennictwa. Istotnym elementem Dyskusji jest również próba wyjaśnienia przez Doktorantkę różnic w uzyskanych wynikach badania w zależności od użytej metody z zastosowaniem gazu znacznikowego lub 100% tlenu. Dyskusja przeprowadzona jest w sposób systematyczny wraz z krytyczną oceną wyników własnych i świadczy o bardzo dobrej znajomości zagadnienia i dużej dojrzałości naukowej Autorki.

Sformułowane wnioski są adekwatne do celu pracy i w pełni poparte wynikami.

Z obowiązku recenzenta poniżej załączam nieliczne, drobne uwagi do pracy, które nie wpływają na moją wysoką ocenę:

1. W opisie skrótów Autorka stosuje pojęcie „oporność", które nie jest tożsame ze stosowanym przez Autorkę zamiennie prawidłowym „opór". Zamiennie stosować można też pojęcie „wskaźnik rezystancji". Również w opisie skrótów Autorka stosuje pojęcie „gazu pułapkowanego", a we Wstępie „pułapkowania gazu" (str 26). Prawidłowo powinno być „pułapki powietrznej".
2. Kilkakrotnie w tekście (np. str 17,23,30,33) Autorka używa pojęcia „tkanki płucnej". Tkanka jest pojęciem histologicznym, a właściwym tłumaczeniem angielskiego „lung tissue" jest miąższ płuca, który zbudowany jest z kilku rodzajów tkanek.
3. We wstępie Doktorantka stwierdza: „infekcje wywołane szczepami gronkowca wrażliwego na metycylinę nie stanowią istotnego problemu klinicznego". Nie jest pogląd podzielany przez wszystkich badaczy zajmujących się chorymi na mukowiscydozę. Na przykład Junge i współpracownicy [*PLOSone 2016;11(11): e0166220.doi:10.1371*] u chorych >6rż odnotowali cięższy przebieg choroby i szybsze pogarszanie się wartości FEV1 w grupie pacjentów zakażonych gronkowcem złocistym. Podobnie Pillarisetti i współpracownicy w australijskim badaniu ARREST CF odnotowali niekorzystny wpływ zakażenia gronkowcem złocistym na parametry czynności płuc niemowląt chorych na mukowiscydozę [*Am J Crit Care Med. 2011;184(1):75-81*]. Wyższe ryzyko przyspieszonego pogorszenia wartości FEV1 u dzieci zakażonych gronkowcem złocistym opisano też w kohorcie 946 dzieci w badaniu EPIC [*Pediatr Pulmonol 2015;50:763-770*].



Ur

4. W tabeli 3 Autorka wskazuje, że nieinwazyjność jest zaletą wyłącznie oscylometrii. Żadne z badań czynnościowych układu oddechowego nie jest badaniem inwazyjnym. „Konieczność odpowiedniego przeszkolenia personelu" dotyczy wszystkich badań, a nie tylko wypłukiwania gazu obojętnego metodą wielokrotnych oddechów.
5. Autorka w tym samym podrozdziale określa spirometrię jako badanie służące do mierzenia przepływów, a akapit niżej – objętości. W rzeczywistości podczas badania spirometrycznego dokonujemy pomiarów przepływów, na podstawie których obliczane są objętości (str 23).
6. W piśmiennictwie polskim przyjęto stosować pojęcie „krzywa przepływ-objętość" a nie „pętla objętości przepływu" (str 25)
7. Prawidłowym rozwinięciem skrótu angielskiego RV jest *Residual Volume* , a nie, jak pisze Autorka *Residual Capacity* (str 26). Rozróżnienie to jest bardzo istotne, bo jako „objętości" określamy wartości niepodzielne, w przeciwieństwie do składających się z kilku elementów „pojemności".
8. Kształt „kija golfowego" pętli obrazującej zależność przepływu od oporu dróg oddechowych świadczy o rozdęciu i pułapce powietrznej, a nie o „niedrożności" (str 28)
9. Wyjaśnienia wymaga stwierdzenie Autorki „ze względu na powszechną dostępność azotu, $N_2MBW$ stało się jedną z najintensywniej analizowanych, nieinwazyjnych technik diagnostyki płuc". Podczas badania pacjent oddycha 100% tlenem, a w tym czasie dokonuje się pomiaru stężenia azotu w powietrzu wydychanym (malejącego w kolejnych oddechach). Jakie ma zatem dla badania znaczenie „dostępność azotu"?
10. W analizie statystycznej Autorka podaje, że normalność rozkładu badano testem „Shapiro-Wilkesa". W rzeczywistości jest to test „Shapiro-Wilka". Podobnie test „t-Studenta", a nie „T-Studenta" Angielskie „*paired values*" to zmienne powiązane, a „*independent values*" to „zmiennie nie powiązane". Czy poziom istotności statystycznej testu ANOVA jest w rzeczywistości <0,5 (str 45)? Oznacza to przecież, że w połowie przypadków można było popełnić błąd pierwszego rodzaju, a wiec przypisanie istotności statystycznej nieistotnej statystycznie różnicy.
11. Wyjaśnienia wymaga też podpis pod Ryciną 16 oraz opis wyników na stronie 65. Czy Autorka porównywała LCI do wartości $FEV_1/FVC$ czy do %wartości należnej tego parametru?
12. Na stronie 63 Autorka pisze: „Przeprowadzona analiza wykazała zależność parametrów oscylometrycznych, takich jak R5 oraz R20 z parametrem $S_{cond}$ (...). Natomiast nie stwierdza się istotnej korelacji między parametrami $S_{acin}$, $S_{cond}$ z wielkościami badanymi za pomocą

oscylometrii" . Pierwsze zdanie odzwierciedla dane przedstawione w tabeli 13, drugie stanowi jego zaprzeczenie.

13. Pojedyncze literówki: „wypłukiwaniu" zamiast „wypłukiwanie" (str10) „dystane" zamiast „dystalne" (str 25); „obrazujący" zamiast „obrazującym" (str 56)
14. Drobne uchybienia natury językowej: „zmiana jest równa i przeciwna do objętości" (str 26) powinno być „zmiana jest równa i przeciwna do zmiany objętości"; „ dla poszczególnych oscylacji" (str 29) powinno być „dla oscylacji o różnych częstotliwościach" w opisie grupy kontrolnej Autorka pisze „nie posiadający zdiagnozowanej mukowiscydozy ani innej przewlekłej obturacyjnej choroby płuc" (87) powinno być, „nie chorujący na mukowiscydozę, ani żadną chorobę płuc"; „markerami zapalenia płuc, infekcji" (str 89) – te markery się nie różnią, chyba, że autorka miała na myśli konkretny rodzaj zapalenia np. zapalenie eozynofilowe; "waga" stanowi przyrząd do pomiaru „masy ciała" – parametru charakteryzującego pacjentów (str 90); anglicyzmy: „zrelaksowanego oddechu" (str 27) powinno być „spokojnego oddechu"; „gaz inertny" (str 8,32,86) – powinno być „gaz obojętny"; „wada perfuzji" (str 86) – powinno być „zaburzenia perfuzji"
15. Pozycja 56 piśmiennictwa dotyczy wytycznych ATS/ERS wykonywania spirometrii, a nie rozpoznawania zaostrzeń choroby oskrzelowo-płucnej w przebiegu mukowiscydozy (str 41).
16. Na stronie 76 Autorka powołuje się na Rycinę 49, której w pracy nie ma (ostatnia Rycina oznakowana jest numerem 39)
17. Zapis notatek bibliograficznych wymaga korekty w postaci ujednolicenia zapisu nazw czasopism, numeracji bibliograficznej oraz korekty pojedynczych błędów literowych. (Np. pozycje 2,7,8,26,51,52,106 (brak nazwy czasopisma),116,120)

Pomimo kilku uwag natury porządkującej, pragnę podkreślić, że nie zmniejszają one wartości merytorycznej zarówno przeprowadzonych badań jak i wnioskowania.

Reasumując mogę stwierdzić, że rozprawa doktorska Pani Magdaleny Postek dotyczy ważnego problemu oceny czynnościowej układu oddechowego u dzieci chorych na mukowiscydozę. Na szczególną uwagę zasługuje kliniczny potencjał przeprowadzonych badań oraz ich nowatorski charakter. Rozprawa jest opracowaniem bardzo wartościowym i powinna zachęcać do dalszych dłuższych obserwacji i badań, a jej wyniki warte są upowszechnienia. Koncepcja pracy, jej realizacja, sposób prezentacji, interpretacja wyników zasługują na uznanie. Magister Magdalena Postek posiada bez wątpienia wiedzę i umiejętność prowadzenia badań naukowych.



Ul

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz.595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.)".

W związku z powyższym przedkładam Radzie Naukowej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr Magdaleny Postek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, z uwagi na dużą wartość merytoryczną pracy, wnoszę o jej wyróżnienie.

Kierownik Kliniki Pneumonologii
Alergologii Dziecięcej
i Immunologii Klinicznej

*dr hab. med. Irena Wojsyk-Banaszak*
Dr hab. n. med. Irena Wojsyk-Banaszak