



INSTYTUT PSYCHIATRII I NEUROLOGII II KLINIKA NEUROLOGICZNA



Kierownik: Prof. dr hab.n.med. Iwona Kurkowska-Jastrzębska

adres: ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa; tel. +48-22-4582537; fax:+48-22-8429322; e-mail: neuro2@ipin.edu.pl

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarz Moniki Figury

pt: „Zmiany w stężeniach aminokwasów, peptydów i białek w tkankach chorych na chorobę Parkinsona.”

Przedstawiona do oceny praca została wykonana w Klinice Neurologii Wydziału Nauki o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem Prof. dr hab. n. med. Andrzeja Friedmana i dr n. biol. Ewy Sitkiewicz (promotor pomocniczy). Praca doktorska przedstawiona do oceny jest cyklem 3 publikacji obejmującym pracę przeglądową oraz dwie prace oryginalne. Są to:

1. Figura M, Friedman A. In search of Parkinson's disease biomarkers - is the answer in our mouths? A systematic review of the literature on salivary biomarkers of Parkinson's disease. *Neurol Neurochir Pol.* 2020;54(1):14-20. doi: 10.5603/PJNNS.a2020.0011. Epub 2020 Jan 31.
2. Figura M, Sitkiewicz E, Świdarska B, Milanowski Ł, Szlufik S, Koziorowski D, Friedman A. Proteomic Profile of Saliva in Parkinson's Disease Patients: A Proof of Concept Study. *Brain Sci.* 2021 May 18;11(5):661. doi: 10.3390/brainsci11050661.
3. Figura M, Kuśmierska K, Bucior E, Szlufik S, Koziorowski D, Jamrozik Z, Janik P. Serum amino acid profile in patients with Parkinson's disease. *PLoS One.* 2018 Jan 29;13(1):e0191670. doi: 10.1371/journal.pone.0191670.

We wszystkich publikacjach doktorantka jest pierwszym autorem co świadczy o największym wkładzie w powstanie publikacji, a także w przeprowadzenie badań i analizę wyników.

Celem pracy była próba znalezienia biomarkerów, które mogłyby służyć w diagnostyce i ocenie progresji choroby Parkinsona. Doktorantka wybrała ocenę proteosomu śliny metodą tandemowej spektrometrii mas oraz ocenę zmian profilu wolnych aminokwasów w surowicy u chorych we wczesnym i późnym etapie choroby. Profil aminokwasów oceniany był metodą wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (high-pressure liquid chromatography, HPLC) z detekcją fluorescencyjną. W pracy przeglądowej doktorantka dokonuje przeglądu piśmiennictwa dotyczącego zastosowania śliny jako wartościowego i łatwo dostępnego materiału dla oceny potencjalnych biomarkerów różnicujących chorych na chorobę Parkinsona i osoby zdrowe.

Mocne strony pracy

1. Praca została w całości opublikowana w recenzowanych czasopiśmie międzynarodowych o wysokim wskaźniku oddziaływania.
2. Pierwszym problemem, który podejmuje doktorantka jest znalezienie biomarkerów pozwalających na wczesne rozpoznanie choroby Parkinsona.
Jest to bardzo ważne zagadnienie podejmowane nieprzerwanie od wielu lat i jest niezwykle ważne w kontekście prób wyjaśnienia patogenezy choroby i ewentualnych prób leczenia hamującego jej postęp. Jest rzeczą wiadomą, że bez wczesnego rozpoznania choroby zahamowanie procesu patologicznego prowadzącego do śmierci neuronów, zarówno dopaminergicznych jak też innych wciągniętych w proces chorobowy jest prawdopodobnie niemożliwe. Faktycznie nie posiadamy jeszcze „złotego” markera wystraczająco dobrego i dostępnego by rozpoznawać chP na wczesnym etapie i śledzić jej rozwój. Zgadza się z Doktorantką, co do przydatności innych metod diagnostycznych min. DAT skan i USG wewnątrzczaszkowe struktur śródmózgowia. Należy przyznać rację, że zarówno DAT skan jest mało wykorzystywany ze względu na utrudniony dostęp i stosunkowo wysoka cenę, zaś techniki ultrasonografii choć bardzo czułe i powtarzalne są wykonywane tylko w niewielu ośrodkach i wymagają dużego doświadczenia osoby wykonującej.
3. Wybór śliny jako materiału do badań jest bardzo dobrze uzasadniony, między innymi tym, że proces chorobowy od początku zajmuje ślinianki podżuchwowe, zmiany składu śliny u chorych z chorobą Parkinsona opisano już wcześniej, co wskazuje na szczególną przydatność tego materiału dla poszukiwania markerów choroby. Zastosowana metoda badania całego proteosomu w danym materiale jest podejściem obecnie szeroko stosowanym i zalecanym jako jeden z etapów poszukiwania biomarkerów białkowych, obok badania wybranych specjalnych białek szczególnie zaangażowanych w dany proces patologiczny jak np. alfa-synukleiny w chP.
4. Doktorantka znalazła w składzie białek śliny trzy, których poziom był mniejszy u chorych z chorobą Parkinsona niż w populacji zdrowej: S100A16, Arp 2/3, VSP4B. Doktorantka szeroko omawia prawdopodobne przyczyny zmiany stężenia w/w białek. Stawia hipotezę, że zmniejszenie poziomu S100A16 może być związane z gorszym stopniem odżywienia (białko to jest zaangażowane w metabolizm adipocytów). Niższe poziomy pozostałych białek mogą być związane z procesami zapalnymi, mechanizmami naprawy DNA czy zwiększoną syntezą endosomów w śliniankach.
5. Drugim problemem, który podejmuje Doktorantka jest ocena stężenia aminokwasów w surowicy krwi chorych w zależności od etapu choroby.

Praca jest dobrze udokumentowana, ciekawa i przekonująca, choć w mniejszym stopniu niż poprzednia wskazuje na praktyczne możliwości zastosowania oceny poziomu aminokwasów w surowicy dla potrzeb oceny pacjentów z chP. Nie przeprowadzono np. analizy pozwalającej np. na ocenę czy poziom aminokwasów (lub panelu aminokwasów) umożliwi np. prognozowanie szybkości postępu choroby.

Doktorantka opisuje różne stężenia badanych aminokwasów u chorych z zaawansowaną chP w porównaniu do osób z wczesną chP: spadek stężenia alaniny, argininy i fenyloalaniny oraz wyższe stężenie treoniny. Można się zgodzić, że wpływ na zmianę poziomu aminokwasów mogą na pewno mieć zaburzenia wchłaniania białek w przewodzie pokarmowym zwiększające się w przebiegu choroby i efekt długotrwałego stosowania leków dopaminergicznym oraz inhibitorów obwodowej dekarboksylazy. Mniej przekonujące jest wyjaśnienie tych zmian poprzez dysfunkcję mitochondriów i stres oksydacyjny oraz sam proces neurodegeneracji, ponieważ jak sama Doktorantka zauważa, trudno wiązać poziom aminokwasów w surowicy z ich zawartością w mózgu.

Uwagi i dodatkowe pytania

1. Przedstawione prace są bardzo dobrze udokumentowane i przedstawione. We wszystkich pracach Doktorantka jest głównym autorem, ale brak jest oświadczeń o udziale w pracy w 1 publikacji od 2 osób w tym od promotorki pomocniczej, w drugiej publikacji też od 2 osób. Proszę o wyjaśnienie.
2. Brakuje zamieszczonych materiałów dodatkowych obu prac oryginalnych – powinny się znaleźć w załącznikach przedstawionego manuskryptu.
3. W odniesieniu do pracy opisującej proteosom: ciekawe jest czy proteosom śliny zmienia się w czasie choroby lub, czy zmieniają się w czasie wyodrębnione przez Doktorantkę markery (tj. S100A16, Arp 2/3, VSP4B) np. w toku leczenia lub w ogóle w przebiegu choroby. Szczególnie ciekawa byłaby grupa chorych oceniona przed włączeniem leczenia i np. po 1-2 latach leczenia. Czy Doktorantce wiadomo coś na ten temat.
4. W odniesieniu do pracy opisującej poziom aminokwasów w surowicy: czy rozważano korelacje badanych aminokwasów z wiekiem chorych. Zważywszy, że w wielu pracach nie pokazano różnic w stężeniu aminokwasów w surowicy pomiędzy grupą kontrolną i chorymi na chorobę Parkinsona, może to wskazywać na zależność poziomu badanych aminokwasów od wieku chorych, a nie od czasu trwania choroby. Czy taka korelacja była badana, albo czy wykonano analizę zależności poziomu aminokwasów od czasu choroby biorąc pod uwagę wiek pacjentów.

Podsumowując, przedstawiona praca doktorska jest spójnym i dobrze przedstawionym cyklem prac w wyczerpujący sposób opisującym założone cele. Dwie publikacje oryginalne są opublikowane w recenzowanych czasopismach z wysokim współczynnikiem oddziaływania tym samym przeszły już proces recenzji i zostały ocenione bardzo dobrze. W pracach zastosowano nowoczesne metody badawcze i świetną analizę statystyczną, nie pozostawiającą wątpliwości co do jakości metodologicznej wykonanych badań. Przedstawiona praca spełnia wszystkie wymagania stawiane pracy doktorskiej.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska lekarz Moniki Figury pt: „Zmiany w stężeniach aminokwasów, peptydów i białek w tkankach chorych na chorobę Parkinsona.”, jest samodzielnym dorobkiem naukowym doktoranta i spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach 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 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.).

Ze względu na wysoki poziom pracy wnioskuję o jej wyróżnienie oraz wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych WUM o dopuszczenie lekarz Moniki Figury do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Iwona Kurkowska-Jastrzębska

Warszawa 2 sierpnia 2021r.