

Recenzja rozprawy doktorskiej lek Bartosza Bugaja zatytułowana **Określenie biomarkerów związanych z obrazem klinicznym oraz odpowiedzią na leczenie u chorych na spondyloartropatie osiowe**

Praca doktorska ma formę cyklu 3 tematycznie powiązanych publikacji z Listy Filadelfijskiej o wysokim współczynniku oddziaływania (IF). Zagadnienie badawcze i wyniki swoich badań zawarł Doktorant w dwóch pracach oryginalnych oceniających tę samą populację chorych – 106 chorych na spondyloartropatie zapalne (tak postać radiograficzna i nieradiograficzna), a badaną populację skonfrontował z próbkami materiału genetycznego zdrowych ochotników pozyskanego ze stacji krwiodawstwa. Ocena stanu klinicznego pacjentów została dokonana przed rozpoczęciem leczenia biologicznego inhibitorem TNF oraz po dwunastu i po dwudziestu czterech tygodniach leczenia.

Równie istotnym elementem jak prace oryginalne, cyklu jest praca przeglądowa opublikowana w czasopiśmie Biomedical Journal of Scientific and Technical Research. Zawarty w niej krytyczny przegląd dostępnego piśmiennictwa stanowi doskonałą podstawę do zrozumienia zawłości genetycznych opisywanych w dwóch, pozostałych pracach oryginalnych.

Należy podkreślić, że we wszystkich pracach doktorant jest pierwszym autorem.

W przedstawionych do recenzji publikacjach, podsumowanych następnie zbiorczo jako ich cykl udaje się wyróżnić następujące cele badawcze podniesione przez Doktoranta:

Jest nimi próba znalezienia nowych biomarkerów związanych z zachorowalnością na axSpA, a także prognozujących wystąpienie objawów pozastawowych oraz skuteczność terapii antycytokinowych z wykorzystaniem leków blokujących aktywność TNF (tumor necrosis factor). Doktorant podjął także próbę poszukiwania czynników ryzyka aktywnej postaci choroby.

Konstruując prace Doktorant skupił się na analizie genetycznej, wybierając za cel swoich badań ocenę 10. polimorfizmów pojedynczego nukleotydu

ERAP1 rs2287987, *ERAP2* rs2549782, *FCGR2A* rs1801274, *TNF* rs1800629, *TNFRSF1A* rs767455, *TNFRSF1B* rs1061622, *VDR* rs7975232, rs1544410, rs2228570, rs731236.

Uzyskane wyniki badań genetycznych pozwoliły Doktorantowi na identyfikację następujących zależności genetyczno-klinicznych.

1. Wśród objawów pozastawowych zależności istotnie statystycznie dotyczyły dwóch polimorfizmów: *ERAP1*rs2287987 i *TNFRSF1B* rs1061622, które powiązane były odpowiednio z zapaleniem przyczepów ścięgniastych oraz błony naczyniowej oka.
2. Częstotliwość genotypów i badanych alleli nie różniła się między populacją badaną a grupą kontrolną.
3. W grupie mężczyzn Doktorant wykazał częstsze występowanie genotypu *TNF* rs1800629 *GG* (*GG* vs *GA* + *AA*, $p = 0,020$).
4. W grupie kobiet stwierdzono częstsze występowanie *VDR* rs731236 *CT*

Istotnym niezwykle interesującym elementem tej dysertacji jest poszukiwanie biomarkerów genetycznych mogących w przyszłości posłużyć do przewidywania

dobrej odpowiedzi na leczenie i w ten sposób wpisywać się w filozofię leczenia spersonalizowanego.

Doktorant po przeprowadzeniu analizy statystycznej odkrył takie zależności -

a) *ERAP1* rs2287987 – CRP przed, po dwunastu i dwudziestu czterech tygodniach leczenia;

b) *TNFRSF1A* rs767455 – CRP i OB przed leczeniem;

c) *TNFRSF1B* rs1061622 – BASDAI oraz wartości VAS bólu kręgosłupa przed leczeniem;

d) *FCGR2A* rs1801274 – OB po dwudziestu czterech tygodniach terapii.

e) *VDR* rs731236 – OB po dwudziestu czterech tygodniach terapii;

f) *VDR* rs2228570 – BASDAI przed leczeniem;

g) *VDR* rs7975232 – BASDAI przed i po dwudziestu czterech tygodniach leczenia

Po krytycznym zestawieniu i zastosowaniu poprawki Bonferroniego podwyższono próg istotności statystycznej do $p < 0,008.$, co spowodowało, że jedynie zależności *TNFRSF1A* rs767455 dla stężenia CRP przed leczeniem, a także *TNFRSF1B* rs1061622 z parametrami BASDAI i VAS przed leczeniem pozostały istotne statystycznie.

Uzyskane wyniki badań umożliwiły doktorantowi wyciągnięcie następujących wniosków:

1.SNP mają potencjał, żeby zostać biomarkerami przewidującymi przebieg axSpA. Wśród zalet można wymienić stałość, łatwy i wiarygodny pomiar, a co najważniejsze – obecność przed rozpoczęciem leczenia. Prognozowanie przebiegu choroby pozwoli zidentyfikować pacjentów zagrożonych ciężkim przebiegiem axSpA lub wystąpienia objawów pozastawowych co pozwoli na wcześniejsze zintensyfikowanie terapii w poszczególnych grupach ryzyka.

2. Odnotowano dwie zależności związane z występowaniem objawów pozastawowych: genotyp *ERAP1* rs2287987 AA występował częściej u pacjentów z zapaleniem przyczepów ścięgnistych, natomiast *TNFRSF1B* rs1061622 GG wśród chorych z zapaleniem błony naczyniowej oka.

3. Polimorfizmy *TNFRSF1A* rs767455, *TNFRSF1B* rs1061622, *VDR* rs2228570 oraz *VDR*rs7975232 korelowały z aktywnością choroby przed rozpoczęciem leczenia anty-TNF, mierzoną stężeniem CRP oraz parametrami BASDAI i VAS bólu kręgosłupa.

4. Biomarkerami przewidującymi odpowiedź na leczenie anty-TNF, ocenioną za pomocą BASDAI oraz wartości OB, były: *ERAP1* rs2287987, *ERAP2* rs2549782, *TNFRSF1B*rs1061622, *FCGR2A* rs1801274, *VDR* rs7975232, *VDR* rs731236.

5. Chociaż SNP mogą poprawić diagnostykę axSpA, zwłaszcza jako elementy genetycznych skal ryzyka, analizowane polimorfizmy nie były związane z występowaniem choroby w populacji polskiej.

6. Profilowanie genetyczne może pomóc w dobraniu właściwego leku dla konkretnego pacjenta, maksymalizując działanie terapeutyczne i minimalizując efekty uboczne. Do dokładnego przewidywania odpowiedzi na leczenie, z uwagi na złożoną heterogenność chorób reumatycznych, prawdopodobnie wymagane będzie połączenie danych genetycznych, klinicznych i środowiskowych. Takie postępowanie otworzy drogę do personalizacji terapii axSpA.

7. Konieczne są dalsze badania na większej grupie pacjentów, obejmujące również inne populacje na świecie. Przed zastosowaniem nowych biomarkerów w praktyce klinicznej należy przeprowadzić dokładną walidację.

Formalna dyskusja została zawarta w każdej z publikacji. Sporządzając jednak oficjalny dokument Doktorant zawarł najważniejsze elementy dyskusji wskazując na znaczenie poczynionych obserwacji. Wskazał również na ograniczenia swojej

pracy co należy uznać za przejaw naukowego krytycyzmu nawet wobec własnych osiągnięć.

Recenzent nie ma merytorycznych zastrzeżeń do pracy. Publikacje wchodzące w zakres cyklu poddane były rygorystycznej ocenie stąd wyeliminowano nieścisłości i ewentualne niedociągnięcia pracy.

Analizując zawarte w Doktoracie załączniki- oświadczenia Autorów zauważyłem brak podania procentowego udziału każdego ze współautorów. Wynika to zapewne z regulacji formalnych danej Uczelni, ale taka informacja jest jednak niekiedy potrzebna , przy analizie dorobku współautorów lub przy ubieganiu się o kolejne stopnie naukowe.

Uwaga ta oczywiście ma charakter techniczny

Dlatego też biorąc pod uwagę fakt opublikowania uzyskanych wyników w postaci cyklu trzech publikacji w renomowanych czasopismach zagranicznych wypada mi tylko stwierdzić, że przedstawiona mi do recenzji praca Bartosza Bugaja zatytułowana „**Określenie biomarkerów związanych z obrazem klinicznym oraz odpowiedzią na leczenie u chorych na spondyloartropatie osiowe**” spełnia wszystkie zwyczajowo przyjęte wymagania stawiane tego typu pracom a ponadto spełnia przepisy prawne zawarte w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn zm.)

Dlatego też jest mi niezmiernie miło zarekomendować dopuszczenie Pana Bartosza Bugaja do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie z uwagi na wysoką jakość przeprowadzonych badań i opublikowania uzyskanych danych w postaci cyklu trzech publikacji w zagranicznych czasopismach naukowych wnioskuję o wyróżnienie w/w rozprawy.