



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wrocław, 06. 01. 2021

Recenzja

rozprawy doktorskiej pani lek. Małgorzaty Królik

pt. „*Analiza wybranych parametrów auto- i alloimmunologicznych oraz przebiegu ciąży u pacjentek z nawracającymi poronieniami, będących nosicielkami alleli HLA-DQ2 (HLA-DQ2.5, HLA-DQ2.2) i –DQ8.*” przygotowana na podstawie decyzji

Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pani lek. Małgorzaty Królik jest wynikiem badań pacjentek z niepowodzeniem rozrodu. Doktorantka w swojej pracy skupiła się na analizie wybranych parametrów immunologicznych oraz przebiegu ciąży w odniesieniu do nosicielstwa polimorfizmu HLA-DQ2/DQ8 u kobiet z poronieniami nawykowymi w wywiadzie.

Badania wykonane przez Doktorantkę prowadzone były w latach 2016-2018 pod kierunkiem dr hab. n. med. Aleksandry Jezeli-Stanek, profesora IGiChP z Zakładu Genetyki i Immunologii Klinicznej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc.

Niepowodzenie rozrodu obejmuje szeroką gamę patologii ciąży jak poronienia, porody przedwczesne, ograniczenie wzrastania płodu, stan przedrzucawkowy czy wady wrodzone płodu. Oprócz niekorzystnego rokowania dla przebiegu ciąży, niepowodzenia rozrodu prowadzą do istotnego pogorszenia stanu psychicznego rodziców i znaczącego podniesienia kosztów opieki medycznej. Stąd dąży się do określenia przyczyny straty ciąży tak aby wdrożyć odpowiednie leczenie. Niestety, pomimo rozwoju metod diagnostycznych, w około 50% poronień nie można

ustalić przyczyny patologii. W literaturze wzrasta liczba doniesień sugerujących znaczenie schorzeń immunologicznych (zespół antyfosfolipidowy, choroba Hashimoto, celiakia) w etiologii poronień. W diagnostyce ginekologiczno-położniczej niepowodzenia rozrodu coraz częściej stosuje się m.in. ocenę polimorfizmów genetycznych oraz polimorfizmów ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA – *Human Leukocyte Antigens*).

Częstość występowania nawracających poronień waha się więc w zależności od przyjętej definicji od 1-3% do 2-5% par w okresie rozrodczym. Poronienia nawracające obejmują 5% wszystkich poronień samoistnych i są przyczyną utraty do 0,8% wszystkich ciąży. Ryzyko na poronienie czwartego i kolejnego dziecka po trzech poronieniach wzrasta o 25-46%. Ponadto około 3-6% par po dwóch lub więcej poronieniach jest nosicielami aberracji chromosomowej, co znacząco wpływa na poradnictwo rodzinne i wysokie ryzyko kolejnych poronień oraz ryzyko wystąpienia wad rozwojowych u żywo urodzonych dzieci. Stąd problem poronień nawracających w położnictwie jest niezmiernie istotny.

Ocena pracy doktorskiej:

Ocena pracy doktorskiej obejmowała ocenę merytoryczną i metodologiczną pracy oraz podsumowanie i wnioski końcowe. Rozprawa doktorska pani Małgorzaty Królik została skonstruowana na podstawie klasycznej dysertacji. Przedstawiona do recenzji praca obejmuje 111 stron z tradycyjnym podziałem na wstęp, określenie celów pracy wraz z uzasadnieniem podjęcia tematu, opisem materiału do badań i zastosowanych metod, wyniki oraz omówienie wyników i dyskusję, a także wnioski. Ponadto praca obejmuje streszczenie w języku polskim i angielskim, spis cytowanego piśmiennictwa oraz wykaz skrótów, spis rycin i tabel.

We Wstępie Autorka szczegółowo przedstawiła definicję niepowodzenia rozrodu, poronienia oraz poronień nawracających (RPL) wg europejskich stowarzyszeń medycznych, polskiego prawa i WHO (w definicjach tych istnieją pewne rozbieżności), aspekty etiologiczne poronień nawracających z wyszczególnieniem przyczyn autoimmunologicznych, aspekty epidemiologiczne, diagnostyczne i kliniczne nawracających poronień. Na uwagę zasługuje przedstawienie szczegółowych przyczyn autoimmunologicznych poronień nawracających wraz ze znaczeniem polimorfizmów HLA-DQ2/DQ8 na przebieg ciąży. Ponadto Doktorantka przedstawia potencjalną patogenezę zaburzeń rozrodu w celiakii, co jednak nie jest dokładnie poznane. Należy podkreślić, że Doktorantka przekonująco uzasadnia znaczenie dwóch głównych mechanizmów mogących mieć udział w niepowodzeniu rozrodu u chorych na nieleczoną celiakię: niedobory żywieniowe oraz mechanizmy autoimmunologiczne.

Ta część wstępu jest wartościowa pod względem edukacyjnym. Wstęp jest również tekstem, który może być opublikowany jako artykuł poglądowy.

Nie mam żadnych zastrzeżeń ani merytorycznych ani redakcyjnych do tej części dysertacji.

Wstęp stanowi szczegółowe i rzetelne omówienie poruszanych zagadnień, w oparciu o szeroką i aktualną literaturę i pozwala czytelnikowi na zapoznanie się z problemami, na których Doktorantka skupia się w swojej pracy badawczej. Przedstawiona wnikliwa analiza aktualnej literatury nie pozostawia wątpliwości, że decyzja Doktorantki o kierunku prowadzonych badań jest w pełni uzasadniona zakresem obecnej wiedzy, zarówno z naukowego, jak i klinicznego punktu widzenia.

Cel rozprawy doktorskiej pani Małgorzaty Królik oraz uzasadnienie podjęcia tematu zostały sformułowane logicznie, spójnie i konkretnie, co potwierdza dojrzałość naukową Doktorantki. Głównymi celami badań Doktorantki były:

1. Ocena różnic w parametrach biometrycznych płodu w badaniu przesiewowym w I trymestrze ciąży wraz z oceną testu podwójnego między kobietami z RPL posiadającymi polimorfizm HLA DQ2/DQ8 oraz tymi, które go nie posiadały.
2. Analiza wpływu polimorfizmu HLA-DQ2/DQ8 na występowanie zaburzeń alloimmunologicznych u kobiet z RPL.
3. Analiza wpływu polimorfizmu HLA-DQ2/DQ8 na występowanie zaburzeń autoimmunologicznych u kobiet z RPL.

Badania zostały przeprowadzone w latach 2016 - 2018 roku u 105 pacjentek z 2 lub więcej poronieniami, u których ostatecznie uzyskano ciążę. Pacjentki były pod opieką Poradni Patologii Ciąży w Centrum Ginekologii, Położnictwa i Neonatologii w Opolu.

Należy podkreślić, że grupa badana jest wystarczająca, żeby wyciągnąć pewne wnioski statystyczne z dokonanej analizy. Problemy medyczne analizowanych pacjentek zostały dobrze zdefiniowane klinicznie. U wszystkich pacjentek zebrano dokładny wywiad lekarski włącznie z informacją o przyjmowanych suplementach, występujących chorobach, spożywaniu alkoholu i powikłań położniczych w ubiegłych ciążach. Ponadto przebadano kobiety w kierunku obecności *Ureaplasma* spp., *Mykoplasma* spp., *Chlamydia* spp. oraz onkogennych typów HPV. Kryteria wyłączenia z badań były szersze (zaburzenia chromosomalne u płodu lub u rodziców oraz zdiagnozowanie u płodu wad rozwojowych). Pacjentki objęte badaniem w ramach niniejszej pracy zostały podzielone na dwie grupy: z obecnym polimorfizmem: HLA-DQ2.2 (N=12), HLA-DQ2.5 (N=9), HLA-DQ8 (N=18) lub obecnymi łączonymi polimorfizmami (N=10), a także na grupę kontrolną (N=46), w której nie wykazano obecności polimorfizmu: HLA-DQ2.2, HLA-DQ2.5, HLA-DQ8.

Badania podjęte przez Doktorantkę mają ważne implikacje kliniczne, wpływają na lepsze zrozumienie przyczyn nawykowych poronień oraz ustalenie badań diagnostycznych do omawianego problemu poronień nawykowych. Podejście do zagadnienia naukowego jakie prezentuje Doktorantka świadczy o dojrzałym i naukowo zasadnym potraktowaniu tematu.

Doktorantka rzetelnie przedstawiła uzyskane liczne **wyniki** swoich badań. Jestem pod wrażeniem dokładnej analizy licznych czynników ocenianych w pracy u kobiet z poronieniami nawyko-

wymi w wywiadzie w odniesieniu do nosicielstwa polimorfizmu HLA-DQ2/DQ8, chociaż przy zastosowaniu dość prostych narzędzi statystycznych.

Rozdział „Dyskusja” jest kwintesencją naukowej analizy i dyskusji, dokładnie i dobitnie tłumaczy uzyskane wyniki badań własnych. Przyznaję, że była to bardzo interesująca lektura, szczególnie, że omawiane problemy dotyczą ważnego klinicznie problemu poronień nawykowych.

Doktorantka skupiła się na dyskusji swoich wyników badań z danymi opisywanymi w literaturze odnośnie znaczenia zaburzeń immunologicznych, w tym celiakii w etiologii powtarzających się poronień, a w szczególności związku polimorfizmów HLA-DQ2/DQ8 z przebiegiem ciąży. Według danych literaturowych szacuje się, że zaburzenia immunologiczne występują u 70% wszystkich kobiet z RPL, co stanowi główną przyczynę niepowodzeń rozrodu. Doktorantka wskazuje się na potrzebę poszukiwania markerów predykcyjnych wystąpienia schorzeń immunologicznych celem lepszego zrozumienia etiologii niepowodzeń rozrodu oraz poszukiwania możliwości profilaktyki i leczenia. Ta część Dyskusji była najbardziej intrygująca naukowo.

W odpowiedzi na postawiony cel, Autorka sformułowała pięć właściwych i logicznych **wniosków**, w których wskazała, że:

1. W badanej grupie kobiet z poronieniami nawykowymi wykazano 1,5-2x częstsze występowanie polimorfizmu HLA-DQ2/DQ8 w stosunku do populacji ogólnej.
2. U płodów matek z obecnym polimorfizmem HLA-DQ2.2. zaobserwowano istotnie statystyczną większą szerokość NT w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej.
3. Nie wykazano powiązania polimorfizmu HLA-DQ2/DQ8 ze zwiększonym ryzykiem zaburzeń allo-immunologicznych.
4. Wykazano istotny statystycznie związek między polimorfizmem HLA-DQ2/DQ8 a podwyższonym stężeniem wykładników zaburzeń autoimmunologicznych, takich jak aTPO oraz aCL w klasie IgG.
5. Występuje istotny statystycznie związek między stężeniem aTPO a wyższą wagą urodzeniową dziecka.

Podsumowując wysunięte wnioski z pracy Doktorantki, należy podkreślić, że wyniki Jej badań mogą zostać wykorzystane w praktyce klinicznej w celu poprawy procesu diagnostycznego i terapeutycznego w poronieniach.

W tej części pracy Doktorskiej zauważyłem kilka niedociągnięć redakcyjnych i interpunkcyjnych (np. niepoprawnie stylistyczne sformułowanie „w porównaniu do grupy kobiet kontrolnych”, powinno być „w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej“), jednak nieistotnych dla oceny merytorycznej pracy.

Doktorantka **zacytowała** 131 pozycji literaturowych, właściwie dobranych i aktualnych, dotyczącej sedna poruszanych zagadnień. Cytowane publikacje dowodzą znajomości przez Doktorantkę literatury przedmiotu oraz umiejętności korzystania z licznych i różnorodnych źródeł wiedzy. Ponadto Doktorantka umieściła 20 rycin i 17 tabel, rzetelnie przygotowanych,

przedstawiających przede wszystkim wyniki pracy, ale także podsumowanie wiedzy teoretycznej o poruszonym zagadnieniu.

W podsumowaniu podkreślę, że uzyskane rezultaty mają znaczenie dla nauki i praktyki klinicznej, Doktorantka poprawnie formułuje problemy i założenia badawcze, wykazuje trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania. Dysertacja Doktorantki cechuje się prawidłowym układem pracy i struktury podziału treści, poprawnością formalno-językową. Znalazłem kilka błędów stylistycznych, interpunkcyjnych czy ogólnie redakcyjnych, co oczywiście nie umniejsza wartości naukowej tej pracy.

W mojej ocenie rozprawa doktorska pani lek. Małgorzaty Królik spełnia wymogi, stawiane tego typu rozprawom 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 1 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.). W związku z tym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie pani lek. Małgorzaty Królik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Robert Śmigiel

