

**RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**  
**„ANALIZA STĘŻENIA CZYNNIKA WZROSTU FIBROBLASTÓW  $\alpha 1$**   
**U PACJENTÓW Z CHOROBAŁ MITOCHONDRIALNĄ LECZONYCH DIETĄ**  
**KETOGENNĄ” lek. Dorota Wesół – Kucharska**

Choroby mitochondrialne (MD) to heterogenna grupa wrodzonych chorób metabolicznych spowodowanych defektami w genach kodujących białka mitochondrialne, które są niezbędne do produkcji ATP w wyniku utleniania substratów poprzez cykl Krebsa i fosforylację oksydacyjną. Podstawowe warianty patogenne można znaleźć w DNA jądrowym lub mitochondrialnym (mtDNA). Obecnie znanych jest około 300 różnych zaburzeń. Objawy tych chorób są niezwykle heterogenne, ich początek może wystąpić w każdym wieku, a zazwyczaj dotknięte są głównie tkanki o dużym zapotrzebowaniu na energię, takie jak mięśnie szkieletowe, mięsień sercowy i mózg. Na razie nie jest dostępne w tych schorzeniach leczenie przyczynowe, dlatego też w prowadzeniu pacjentów skupia się na leczeniu objawowym. Biorąc pod uwagę kluczową rolę mitochondriów w metabolizmie energetycznym oraz znaczenie witamin i kofaktorów dla prawidłowego funkcjonowania mitochondriów, interwencje żywieniowe powinny być integralnym elementem postępowania terapeutycznego w tych schorzeniach.

W świetle powyższych danych tym większa jest wartość badań podjętych przez lek. med. Dorotę Wesół - Kucharską i zakończonych rozprawą doktorską pt. „Analiza stężenia czynnika wzrostu fibroblastów  $\alpha 1$  u pacjentów z chorobą mitochondrialną leczonych dietą ketogenną” stanowiących kolejny ważny element w wyjaśnieniu etiologii występowania tych zaburzeń w analizowanej grupie wiekowej.

**Redakcja przedłożonej pracy, poprawność metodyczna, wartość merytoryczna przedstawionych wyników, ocena wniosków pracy.**

Praca (94 stron) napisana jest w układzie typowym dla rozpraw doktorskich, składa się z obszernego *Wstępu*, 6 *Rozdziałów*, zakończonych esencjonalnymi *Wnioskami*, 126 pozycjami

aktualnego i starannie dobranego *Piśmiennictwa*, oraz zwięzłym i rzetelnym *Streszczeniem*, dopełnionych właściwymi spisami rycin, tabel i wykresów oraz opisem dorobku naukowego kandydatki.

Kolejne podrozdziały *Wstępu* płynnie wprowadzają czytelnika w najnowszy przegląd zagadnień związanych z tematyką pracy. W tym może się on zapoznać z aktualnymi danymi dotyczącymi charakterystyki klinicznej chorób mitochondrialnych i ich patomechanizmu, objawów klinicznych chorób mitochondrialnych, najczęstszych fenotypach chorób mitochondrialnych i ich diagnostyce. W drugiej części *Wstępu* w sposób interesujący i przystępny przedstawione zostały zagadnienia związane rolą czynnika wzrostu fibroblastów 21 (FGF21) jako potencjalnego nowego biomarkera w diagnostyce chorób mitochondrialnych oraz zastosowania diety ketogennej w leczeniu pacjentów z chorobą mitochondrialną.

W *Rozdziale II* Autorka przedstawiła zasadnicze założenia i cele swojej pracy jakimi były: Celem głównym pracy była ocena skuteczności diety ketogennej u pacjentów z chorobą mitochondrialną za pomocą FGF21.

Celami szczegółowymi było:

1. Analiza stężenia FGF21 u pacjentów z chorobą mitochondrialną przed i w trakcie leczenia dietą ketogenną.
2. Analiza wybranych parametrów biochemicznych i klinicznych, oceniających skuteczność leczenia dietą ketogenną pacjentów z chorobą mitochondrialną i ich korelacja z wariantem genetycznym, odpowiadającym za występowanie choroby mitochondrialnej.
3. Ocena skuteczności i bezpieczeństwa stosowania diety ketogennej u pacjentów z chorobą mitochondrialną.

Wyznaczone cele Autorka realizowała dzięki przemyślanej metodyce badania, opracowanych kryteriach włączenia i wyłączenia z badania, szczegółowo opracowanej metodyce badań laboratoryjnych oraz odpowiednio dobranej analizie statystycznej przedstawionej w *Rozdziale IV*. Zgodę na przeprowadzenie badań wydała Komisja Bioetyczna IPCZD w Warszawie (nr: 40/KBE/2019).

W *Rozdziale V* na podstawie opracowanej metodyki Autorka przedstawiła wyniki wykonanych badań u 42 pacjentów pediatrycznych, którzy byli hospitalizowani w Klinice Pediatrii, Żywienia i Chorób Metabolicznych IP-CZD w Warszawie. Osoby biorące udział w badaniu

były przydzielane do 4 grup: 1) pacjenci z chorobą mitochondrialną, u których włączono leczenie DK (grupa 1, n=11), 2) pacjenci z chorobą mitochondrialną pozostający na zwykłej diecie (grupa 2, n=10), 3) pacjenci bez choroby mitochondrialnej, u których włączono leczenie DK z innych wskazań (grupa 3, n = 10), 4) pacjenci bez choroby mitochondrialnej pozostający na zwykłej diecie (grupa 4, n = 11). Na wizycie Vo (przy rekrutacji) oraz po 12 miesiącach (wizyta V12) oznaczano stężenie: FGF21, kwasu mlekowego, kwasu pirogronowego, alaniny, kinazy keratynowej, dodatkowo osoby z chorobą mitochondrialną były oceniane za pomocą Międzynarodowej Pediatrycznej Skali Zaawansowania Choroby Mitochondrialnej (IPMDS). Wyniki *Autorka* czytelnie przedstawiła na 15 rycinach i w 13 tabelach.

U pacjentów leczonych dietą ketogenną (gr. 1 i gr. 3) obserwowano zmniejszenie napadów padaczkowych oraz występujących ruchów mimowolnych, a u chorych z chorobami mitochondrialnymi istotnie częściej stwierdzono poprawę napięcia mięśniowego oraz możliwe było u dwóch pacjentów z tej grupy odstawienie leków przeciwpadaczkowych. Działania niepożądane występowały z porównywalną częstością w obu grupach i były to najczęściej: kwasica metaboliczna, hiperurykemia oraz obniżenie stężenia wolnej karnityny. Brak efektu diety ketogennej obserwowano u jednego pacjenta z chorobą mitochondrialną i u dwóch z gr. 3. U trzech pacjentów stosujących dietę ketogenną przerwano leczenie z powodu występowania działań niepożądanych. U 9/11 pacjentów z chorobami mitochondrialnymi leczonych dietą ketogenną stwierdzono poprawę kliniczną, zaś u kolejnych dwóch chorych z tej grupy ich stan nie zmienił się w czasie obserwacji. U chorych z chorobami mitochondrialnymi, którzy stosowali zwykłe diety, objętych standardowym leczeniem (n=10), u siedmiu stwierdzono pogorszenie stanu klinicznego, u dwóch uzyskano poprawę, a u jednego w czasie obserwacji nie odnotowano zmian. Czułość i specyficzność FGF21 w diagnostyce chorób mitochondrialnych była porównywalna z oznaczaniem kwasu mlekowego, kwasu pirogronowego i alaniny w surowicy. Mediana stężenia FGF21 wśród pacjentów z chorobami mitochondrialnymi wynosiła 412,6 (41 – 4466,9) pg/ml vs 52,9 (6,1 – 294,4) pg/ml bez tych chorób. Najwyższe stężenie FGF21 było obserwowane w grupie chorych, u których choroby mitochondrialne wynikały z uszkodzenia mtDNA (mediana: 1895,9 pg/ml), a u pacjentów z deficytem dehydrogenazy pirogronianu wartości te był poniżej punktu odcięcia dla chorób mitochondrialnych (mediana 109,1 pg/ml). Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stopniem zaawansowania



choroby mitochondrialnej (mierzonej w skali IPMDS) a badanymi parametrami laboratoryjnymi. Nie stwierdzono istotnej różnicy w zmianie stężenia biomarkerów w czasie trwania badania wśród pacjentów leczonych i nieleczonych dietą ketogeniczną.

Uznanie recenzenta wzbudziła *Dyskusja*, w którym Autorka prezentuje błyskotliwie uzyskane przez siebie wyniki badań, zestawiając je w kontrpropozycjach do osiągnięć najważniejszych

badaczy z omawianego tematu, publikujących zarówno w Polsce jak i na całym świecie. Podkreślić należy swadę i łatwość zestawiania kluczowych problemów, wynikających z oceny uzyskanych w rozprawie wyników z opiniami innych autorów. Brakuje jednak w mojej opinii informacji o ograniczeniach obecnego badania i możliwych kierunkach badań w przyszłości.

Przedstawione wnioski przez Kandydatkę, w ocenie recenzenta są nie co za długie, jest ich za dużo i w dużej mierze są powtórzeniem rezultatów pracy.

W opinii recenzenta wymagają przeredagowania.

Rozdział piśmiennictwo zawiera 126 dobrze dobranych i aktualnych pozycji, głównie obcojęzycznych i nie budzi zastrzeżeń.

Recenzowana rozprawa doktorska nie ma jakiś poważnych niedostatków merytorycznych lub pozamerytorycznych. Poza wątpliwościami przedstawionymi powyżej znalazłem drobne uchybienia interpunkcyjne i stylistyczne, wymaga ujednolicenia przedstawiona lista piśmiennictwa, wydaje się, że w rozdziale metody powinna się znaleźć informacja czy była prowadzona jakaś forma kontroli realizacji zaleceń dietetycznych przez pacjentów nie tylko pod względem jakościowym, ale też ilościowym.

Powyższe uwagi wypływają z obowiązku recenzenta i nie mają wpływu na ocenę pracy.

Reasumując recenzowana rozprawa doktorska lek. med. Doroty Wesół-Kucharskiej jest oryginalnym, rzetelnym i twórczym wkładem w rozwój wiedzy w omawianym temacie i w pełni odpowiada warunkom stawianym pracom na stopień doktora nauk medycznych, dlatego też wnioskuję o dopuszczenie Pani Doroty Wesół-Kucharskiej do dalszych etapów obrony pracy doktorskiej, według stosownych wymagań i przepisów prawa.

Prof. dr hab. n.med. Artur Mazur