

Prof. dr hab. n. med. Barbara Kamińska
Kierownik Katedry i Kliniki Pediatrii,
Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Tel. 058 76 40 440

Gdańsk, dnia 10 .02. 2016 r.

Recenzja

pracy na stopień doktora nauk medycznych

Lek. Małgorzaty Ruczka

p.t.: Ocena wybranych wskaźników stanu zapalnego w diagnostyce wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci

Ocena klinicznej przydatności oznaczania parametrów stanu zapalnego wciąż stanowi aktualne zagadnienie dla wielu badaczy, zajmujących się różnymi dziedzinami nauki, zarówno w zakresie teoretycznym, jak i praktycznym. Monitorowanie zmian, jakie zachodzą w organizmie ludzkim w czasie choroby za pomocą oceny parametrów stanu zapalnego pomaga wyjaśnić patogenezę schorzenia oraz daje możliwość wdrożenia odpowiedniego leczenia.

Temat pracy doktorskiej uważam za bardzo aktualny i ważny, zarówno w aspekcie naukowo-poznawczym jak też praktycznym, a tym samym w pełni uzasadniony w szeroko rozumianym problemie diagnostyki i leczenia przewlekłego schorzenia, jakim jest WZJ u dzieci.

Na podkreślenie zasługuje również fakt, że ta oryginalna i bardzo aktualna tematyka została podjęta, a praca doktorska zrealizowana w II Katedrze i Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu - ośrodku kierowanym przez Promotora niniejszej pracy Panią Profesor dr hab. Barbarę Iwańczak, pediatrę, gastroenterologa dziecięcego, posiadającej ogromne doświadczenie naukowe i kliniczne.

Wybór przez doktorantkę tematu oceny wskaźników stanu zapalnego, w tym testów nieinwazyjnych, jakim jest oznaczanie kalprotektyny i laktoferyny w kale, jest jak najbardziej uzasadnione, szczególnie w grupie pacjentów, jaką stanowią dzieci.

Oprócz oceny stężenie kalprotektyny i laktoferyny w kale oraz stężenie metaloproteiny-3 i 9 w surowicy, wykonano badania podstawowych parametrów zapalnych jak: stężenie białka C-reaktywnego, seromukoidu,. Badanie kalprotektyny i laktoferyny w kale miało na celu nie tylko określenie przydatności diagnostycznej, lecz także wykorzystanie tych parametrów w ocenie gojenia śluzówki jelita grubego. Tym samym spodziewać się można niezwykle istotnej wartości tej pracy, jaką będą zawarte we wnioskach wskazówki diagnostyczno- terapeutyczne we WZJ.

Przedstawiona mi do oceny praca wyróżnia się niezwykle staranną formą i ma układ typowy dla prac doktorskich.

Praca obejmuje: 106 stron tekstu, w tym 92 pozycje cytowanego piśmiennictwa. Układ pracy jest klasyczny i obejmuje: Wstęp (str. 6-20), Cel pracy (str. 21), Materiały i metody (str. 22-34), Wyniki (str. 35-87), Omówienie i Dyskusję (str. 87-95), Wnioski (str. 95), Streszczenie w języku polskim (str. 96-98).

We wstępie zawartym na 14 stronach autorka dość syntetycznie, a zarazem niezwykle przejrzysto omawia w 18 rozdziałach i podrozdziałach zagadnienia dotyczące wrzodziejącego zapalenia jelit począwszy od stale zmieniającej się w świecie epidemiologii, następnie przedstawia opierając się na najnowszych doniesieniach światowych etiopatogenezę i diagnostykę w różnych aspektach laboratoryjnych ze wskazaniem na wskaźniki stanu zapalnego.

Omawia następnie badania mikrobiologiczne i rozstrzygające zazwyczaj badanie endoskopowe, a także diagnostykę obrazową. Postęp w zakresie tych badań jest ogromny, co uwzględnia w swojej dysertacji doktorantka. Wstęp kończy podrozdziałami dotyczącymi leczenia w szerokim zakresie- od leczenia poszczególnymi grupami leków łącznie z leczeniem biologicznym. W ostatnim podrozdziale doktorantka omawia leczenie chirurgiczne WZJ.

Analizując ten rozdział uważam, że poruszane przez lek. Małgorzatę Ruczka zagadnienia, których omówienie ma prowadzić czytającego do założonego w badaniu celu pracy to głównie rola wywiadu, badania przedmiotowego dziecka, badań mikrobiologicznych, badania laboratoryjne, głównie wykładniki stanu zapalnego oraz diagnostyka obrazowa pozwalająca na określenie lokalizacji (klasyfikacja montrealaska) i stopnia zaawansowania zmian (Ocena zmian endoskopowych wg Rachmilewitsza). Ta ocena pozwoliła doktorantce na określenie skali aktywności wg. Skali Truelove'a i Witts'a, oraz szczegółową klasyfikację aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index - PUCAI).

Literatura wstępu przekonująco prowadzi do wytyczonych przez doktorantkę celów pracy.

Cel pracy został przedstawiony jasno i precyzyjnie.

Celem pracy lek. Małgorzaty Ruczka była ocena przydatności badanych markerów stanu zapalnego w diagnostyce różnicowej, ocenie aktywności klinicznej oraz aktywności endoskopowej choroby.

Oprócz oceny stężenie kalprotektyny i laktoferyny w kale oraz stężenie metaloproteinazy-3 i 9 w surowicy, wykonano badania podstawowych parametrów zapalnych jak: stężenie białka C-reaktywnego, seromukoidu,. Badanie kalprotektyny i laktoferyny w kale miało na celu nie tylko określenie przydatności diagnostycznej, lecz także wykorzystanie tych parametrów w ocenie gojenia śluzówki jelita grubego. Tym samym pozwala to recenzentowi spodziewać się niezwykle istotnej wartości tej pracy, jaką będzie praktyczne zastosowanie wniosków płynących z przeprowadzonych badań w diagnostyce i leczeniu WZJ u dzieci.

Cel pracy był realizowany w oparciu o ocenę 70 dzieci diagnozowanych i leczonych w II Katedrze i Klinice Pediatrii Gastroenterologii i Żywienia UM we Wrocławiu. Wśród tych dzieci u 46 dzieci rozpoznano wrzodziejące zapalenie jelita grubego (33 dziewczynek i 13 chłopców) oraz 24 dzieci (8 dziewczynek i 16 chłopców), u których badaniem kolonoskopowym wykluczono wrzodziejące zapalenie jelita grubego i rozpoznano inne choroby. Dzieci z tej grupy stanowiły grupę porównawczą.

Przedstawione obszernie i szczegółowo, a zarazem w sposób analityczny **metody badawcze** pozwalają czytającemu bez trudu przejść do analizy dalszych części pracy.

Najmocniejszym atutem pracy jest 52 stronicowy rozdział przedstawiający wyniki analizowanego materiału. Tak bogaty materiał autorka przedstawia niezwykle jasno i omawia poszczególne zależności, analizowane cechy i parametry ujmując je w czytelnych 24 tabelach i 28 rycinach.

Rodzaj i ilość wykonanych analiz badawczych była imponująca.

Wyniki badań przedstawione w dysertacji zawierają wiele istotnych stwierdzeń prawidłowo opracowanych w analizie statystycznej. Z punktu widzenia praktycznego klinicysta zwróci zapewne uwagę na kilka spostrzeżeń zawartych w pracy. Autorka wykazała między innymi, że wraz ze wzrostem aktywności choroby zwiększało się stężenie kalprotektyny w kale. Takiej korelacji nie wykazano w ocenie stężenia laktoferyny w zależności od aktywności choroby wg skali Truelovea-Wittsa.

Wysoka wartość badania poziomu kalprotektyny w stolcu w IBD w klinice ludzi dorosłych jest dość dobrze udokumentowana. Autorzy wielu publikacji, również przytoczonych przez doktorantkę stwierdzają dodatnią korelację pomiędzy poziomem kalprotektyny w stolcu a

stopniem zaawansowania procesu zapalnego we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego w klinice ludzi dorosłych. Oznacza to, że poziom kalprotektyny w stolcu może stanowić dobry wskaźnik prognostyczny remisji u chorych z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, natomiast według wielu cytowanych badań nie spełnia takich kryteriów u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Działanie laktoferyny odgrywa w diagnostyce NZJ zasadniczą rolę. W przypadku bakterii Gram-ujemnych, laktoferyna wiąże się z białkami obecnymi na powierzchni bakterii. Doprowadza do uwolnienia lipopolisacharydów, co powoduje wzrost przepuszczalności błony komórkowej bakterii i uwrażliwienie ich na zmianę ciśnienia osmotycznego, działanie lizozymu oraz innych czynników o właściwościach antybakteryjnych. W pracy doktorskiej lek. Małgorzata Ruczka nie stwierdza w badaniach laktoferyny tych zależności, które zauważa w badaniu kalprotektyny. Jak zaznacza autorka, możliwe, że związane to jest z małą liczebnie grupą badanych.

Wyniki stężenia metaloproteinazy 3 i 9 w surowicy u dzieci z aktywną postacią wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i w okresie remisji choroby nie wykazały statystycznie istotnych różnic. Również autorka nie wykazała istotnej statystycznie zależności pomiędzy stężeniem badanych metaloproteinaz a aktywnością choroby w skali Truelovea – Wittsa. Istotne w pracy spostrzeżenie to stwierdzenie, że zarówno w grupie dzieci z aktywną postacią choroby jak i w okresie remisji ocenianej skalą PUCAI stwierdzono wysokie wartości kalprotektyny. Natomiast wykazano statystycznie istotną korelację pomiędzy stężeniem kalprotektyny w kale a aktywnością choroby w skali PUCAI. Wraz ze zwiększającą się aktywnością choroby wzrastało stężenie kalprotektyny. Przeprowadzona analiza stężenia metaloproteinazy-3 i 9 nie wykazała statystycznie istotnej różnicy w stężeniu a aktywnością kliniczną wrzodziejącego zapalenia jelita grubego wg skali PUCAI. Nie wykazano również zależności stężenia metaloproteinazy 3 i 9 od zwiększającej się aktywności choroby w skali PUCAI.

Z analizy przeprowadzonych badań, wielu zależności i odniesień wynikają istotne, kliniczne i praktyczne spostrzeżenia, a mianowicie stwierdzone w badaniach zależności wprost proporcjonalne pomiędzy stężeniami kalprotektyny, białka C-reaktywnego, odczynem opadania krwinek czerwonych i liczbą płytek krwi, które korelowały z aktywnością choroby ocenianą skalą Truelove'a-Wittsa. i dodatkowo aktywnością rzutu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego ocenianą skalą PUCAI. Wartość pracy podnosi również wynik badań, w których autorka stwierdziła, że stężenie kalprotektyny, metaloproteinazy-3, białka C-

reaktywnego, seromukoidu, odczyn opadania krwinek czerwonych i liczby płytek korelowały z aktywnością endoskopową choroby oceniana skalą Rachmilewita.

Takie wyniki badań przekonują czytającego o słuszności podjętych badań i wytyczeniu celów pracy. Klinicysta na podstawie badań nieinwazyjnych może już mieć pogląd na dynamikę procesu chorobowego i mieć wskazówki do dalszych etapów leczenia czy też konieczności poszerzenia diagnostyki.

Następnie kolejne rozdziały pracy, czyli **dyskusja oraz wnioski** wynikają z przeprowadzonej analizy wyników badań.

W przeprowadzonej **dyskusji** autorka analizując badania własne i cytowaną literaturę zawiera stwierdzenia, w których zawarta jest kwintesencja przeprowadzanych tak mozolnych i szczegółowych badań i analiz- wycucie problemu i wieloaspektowych zależności.

Autorka w dalszej części dyskusji stara się wprowadzić czytającego w wynikające z Jej rozważań wnioski. Dyskusja świadczy o dobrej znajomości tematu będącego przedmiotem pracy. Prowadzona w sposób logiczny, porządkująca tak wiele zgromadzonych danych pokazuje zdolność doktorantki do analizy danych z literatury i swoich własnych badań. Prawidłowo zostały zastosowane w dyskusji odniesienia do zamieszczonej w piśmiennictwie literatury.

Spośród uzyskanych przez Doktorantkę wyników przeprowadzonych badań na uwagę zasługują istotne spostrzeżenia, które stanowi sześć wniosków wynikających z pracy.

Wnioski, które wynikają z przeprowadzonych badań i stanowią wskazania do praktycznego zastosowania w diagnostyce i monitorowaniu choroby to wniosek nr 1, w którym doktorantka wskazuje, że wykonywane oznaczanie stężenia kalprotektyny, laktoferyny, metaloproteinazy - 3 i 9, i płytek krwi było przydatne w różnicowaniu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego z innymi chorobami przewodu pokarmowego. Kolejne dwa wnioski 6 i 7 to ważne stwierdzenia, które stają się przesłaniem dla lekarzy gastrologów, którzy diagnozują i leczą chorych na NZJ. Wynika z nich, że ocena badanych parametrów zapalnych pozwala na monitorowanie i ocenę wyników leczenia wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci oraz wskazane jest prowadzenie dalszych badań nad przydatnością oznaczania stężenia kalprotektyny w kale w ocenie gojenia śluzówki jelita grubego oraz dalszych badań nad przydatnością stężenia metaloproteinaz w surowicy i w zapalnie zmienionych bioptatach jelita grubego oraz w bioptatach jelita zdrowego.

Streszczenie zapisane zwięźle i jasno, piśmiennictwo opracowane perfekcyjnie.

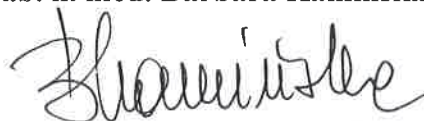
Przygotowując pracę do druku proponuję skorzystać z zamieszczonych poniżej drobnych uwag:

- Nie używamy zapisu "...na tabeli..." tylko ... w tabeli..."
- W podrozdziale wstępu 1.4.2. Badania mikrobiologiczne, uważam, że należy rozszerzyć ten rozdział nie tylko opisując badania, które należy wykonać, a przekazać czytającemu aktualne doniesienia dotyczące mikrobiomu-microbioty- pojęć ostatnio często spotykanych w piśmiennictwie, a dotyczących mikroflory jelitowej w tej grupie schorzeń. Wiąże się to zagadnienie z założeniem i celem pracy doktorskiej lek. Małgorzaty Ruczka. Myślę, że zasoby pracy są ogromne i autorka będzie w tych aspektach kontynuować swoje badania.
- Zgoda Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu - należy wpisać numer wydania zgody.
- Proponuję w dyskusji nie umieszczać podrozdziałów- taki podział na części odbiera dyskusji rolę, jaką ona ma pełnić - wielowątkowego eseju, który ma zazwyczaj charakter literacko-naukowy, prezentujący punkt widzenia autora.

Te niewielkie uwagi z obowiązku recenzenta, zamieszczone w recenzji nie mają wpływu na wartość merytoryczną dysertacji. Nie mam istotnych uwag krytycznych.

Ogólna ocena pracy na stopień doktora nauk medycznych lek. Małgorzaty Ruczka jest pozytywna, spełnia ona wszelkie warunki określone przez aktualną Ustawę o tytule naukowym i stopniach naukowych i wnioskuję o dopuszczenie przez Wysoką Radę Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu do dalszych etapów przewodu doktorskiego

Prof. dr hab. n. med. Barbara Kamińska



Prof. dr hab. n. med. Barbara Kamińska
pediatra, gastroenterolog
1772507