

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
DZIEKANAT WYDZIAŁU LEKARSKIEGO

wpl. dn. 18 STY. 2016

L.dz. DL/ 176/16
Znak sprawy DL-

Ocena pracy doktorskiej
lek. Małgorzaty Ruczki pt.: „Ocena wybranych wskaźników stanu zapalnego w
diagnostyce wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci”

Nieswoiste zapalenia jelit stanowią grupę chorób o coraz cięższym przebiegu, których wiek zachorowania przesuwają się do okresu dziecięcego i wymagających coraz bardziej złożonego oraz kosztownego leczenia, w których istotną rolę odgrywa monitorowanie nasilenia procesu zapalnego. Dlatego poszukuje się laboratoryjnych wykładników stanu zapalnego, wiernie odzwierciedlających jego natężenie i dynamikę. W nurt tych poszukiwań wpisuje się oceniana praca doktorska wszechstronnie analizując cały szereg wykładników stanu zapalnego i ich przydatność w ocenie aktywności zapalenia. Na podkreślenie zasługuje fakt, że praca powstała w jednym z liczących się ośrodków gastroenterologicznych w Polsce, mającym duże osiągnięcia w badaniach nad kliniką nieswoistych zapaleń jelit u dzieci, napisana została pod kierunkiem wybitnego specjalisty – p. prof. dr hab. Barbary Iwańczak, wieloletniej Przewodniczącej Sekcji ds. Nieswoistych Zapaleń Jelit Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci .

Przedstawiona do recenzji praca liczy 106 stron tekstu. Lekturę pracy ułatwiają 28 tabel i 24 ryciny zamieszczone w tekście. Piśmiennictwo liczy 92 pozycje, uporządkowane w kolejności alfabetycznej, z których 22 obejmuje piśmiennictwo polskie, a 70 – angielskie. Układ pracy jest klasyczny. Składa się ona z wstępu, nakreślenia celu pracy, opisu materiału i metodyki, omówienia wyników, dyskusji, wniosków, streszczenia oraz piśmiennictwa.

We wstępie liczącym 15 stron Doktorantka przystępnie przedstawia aktualny stan wiedzy na temat etiopatogenezy, kliniki i leczenia nieswoistych zapaleń jelit, ze zwróceniem szczególnej uwagi na charakterystykę stosowanych w klinice wykładników stanu zapalnego.

Celem pracy była ocena przydatności badań markerów stanu zapalnego w diagnostyce różnicowej, ocenie aktywności klinicznej i endoskopowej

Badania przeprowadzono u 70 dzieci w wieku 2 – 19 lat, leczonych w II Katedrze i Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia UM we Wrocławiu. Spośród tej grupy u 46 dzieci rozpoznano wrzodziejące zapalenie jelita grubego (wzjg) oraz u 24 dzieci, które po wykluczeniu wzjg stanowiły grupę odniesienia. Rozpoznanie wzjg ustalono na podstawie kryteriów klinicznych i pracownianych, w tym endoskopowych i histopatologicznych. U 35

dzieci rozpoznano ciężką lub umiarkowaną, a u 11 – łagodną postać choroby. W czasie przeprowadzenia badań 11 dzieci otrzymywało azatioprynę, 10 – glikokortykosteroidy, 1 – cyklosporynę, a 1 było poddane leczeniu biologicznemu.

Ocenę aktywności choroby oceniono za pomocą dwóch metod – starszej – zmodyfikowanej skali Truelove – Wittsa i nowszej – pediatric ulcerative colitis index (PUCAI). Ocenę aktywności endoskopowej zmian zapalnych błony śluzowej jelita grubego oceniono za pomocą skali Rachmilewicza

W badaniu wykorzystano następujące badania laboratoryjne: odczyn sedymentacji erytrocytów (OB.), liczbę płytek w badaniu morfotycznym krwi, białko c-reaktywne (crp), seromukoid, stężenie białka i albumin, żelaza i fibrynogenu. Badania te wykonano metodami standardowymi.

Stężenie kalprotektyny w kale oznaczano metodą immunoenzymatyczną przy użyciu Calprotectin- ELISA (Bühlmann Laboratoires AG, Switzerland). Z kolei laktoferynę w kale oznaczano metodą immunoenzymatyczną ELISA przy zastosowaniu testu komercyjnego IBD-SCAN (Techlab, Netherland)

U badanych pacjentów metaloproteinazy 3 i 9 oznaczano przy zastosowaniu testów komercyjnych Quantikinine, MMP-3 (Intel) immunoassay oraz DuoSet, Human MM-9/TIMP-1 Complet (Minneapolis, USA) ilościową metodą immunoenzymatyczną.

Wyniki zostały poddane weryfikacji statystycznej przy zastosowaniu programu Statistica 10 PL.

Na przeprowadzenie badań zgodę wyraziła Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

W pierwszej części pracy Doktorantka przeprowadziła analizę wykładników zapalenia u dzieci z wzjg w odniesieniu do grupy kontrolnej. U dzieci z wzjg stwierdzono znamienne podwyższone wartości podstawowych parametrów takich jak OB ($16,64 \pm 15,84$ mm/h vs. $9,52 \pm 5,92$ mm/h; $p=0,051$), płytki krwi ($379 \pm 164,55$ K/ul vs 300 ± 72 K/ul; $p=0,0297$), seromukoid ($1,12 \pm 0,51$ g/l vs $0,81 \pm 9,28$ g/l; $p=0,050$ oraz specjalistycznych – kalprotektyny w kale ($725,58$ vs 593 ± 36 ug/g; $p=0,0000095$) i laktoferyny ($17,72 \pm 9,36$ ug/ml vs $4,13 \pm 6,38$ ug/g; $p=0,00079$) i metaloproteinazy 3 ($12,94 \pm 11,46$ vs $3,48 \pm 3,05$ ug/ml. Natomiast dla białka ostrej fazy (crp) i metaloproteinazy 9 wykazano jedynie tendencję do wyższych wartości u dzieci z wzjg.

Analizując zależność powyższych parametrów od rozległości zmian zapalnych (prostnica, lewa strona okrężnicy, całe jelito grube) Doktorantka wykazała, że jedynie stężenia seromukoidu i OB wykazują znamienne różnice (odpowiednio $p=0,002$ i $0,012$) pomiędzy grupami dzieci, u których zapalenie ogranicza się do odbytnicy ($0,68\pm 0,20$ g/l; $6,5\pm 4,76$ mm/h), lewej strony okrężnicy ($0,96\pm 0,26$ g/l; $11,12\pm 9,25$ mm/h) lub obejmują całe jelito grube ($1,51\pm 0,55$ g/l; $124,35\pm 19,96$ mm/h)

Analizując zachowanie się parametrów zapalnych w zależności aktywności klinicznej wzjg wyrażonej w zmodyfikowanej skali Truelove- Wittsa Autorka wykazała słabą korelację w odniesieniu do kalprotektyny ($r=0,337$; $p=0,038$), crp ($r=0,328$; $p=0,026$), OB ($r=0,61$; $p<0,05$), liczby płytek krwi ($r=0,307$; $p=0,045$). Dla pozostałych parametrów korelacji nie wykazano.

Podobna analiza przeprowadzona do skali PUCAI w odniesieniu do kalprotektyny wykazała niewielką korelację ($r=0,347$; $p=0,033$). Wyraźniejszą korelację wykazano dla OB ($r=0,481$; $p=0,001$). Dla pozostałych parametrów korelacji nie wykazano.

W dalszym etapie badań Doktorantka przeprowadziła porównawczą ocenę wykładników stanu zapalnego w odniesieniu do nasilenia aktywności endoskopowej zmian zapalnych błony śluzowej jelita grubego, wyrażonej w skali Rachmilewicza. Zależność taka została wykazana w odniesieniu do kalprotektyny ($r=0,355$; $p=0,046$), stężenia metaloproteinazy 3 ($r=0,402$; $p=0,011$), stężenia białka c-reaktywnego ($r=0,321$; $p=0,044$), stężenia seromukoidu ($r=0,672$; $p<0,05$), OB ($r=0,721$; $p<0,05$), liczby płytek krwi ($r=0,336$; $p=0,039$). Dla pozostałych parametrów korelacji nie wykazano.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka wysnuła następujące wnioski:

1. Oznaczanie kalprotektyny, laktoferyny, metaloproteinazy 3 i 9 oraz płytek krwi były przydatne w różnicowaniu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego z innymi chorobami przewodu pokarmowego.
2. Wykazano statystycznie istotną zależność pomiędzy stężeniem seromukoidu i odczynu opadania krwinek czerwonych a lokalizacją wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Najwyższe wartości stwierdzono w postaci uogólnionej i lewostronnej, a najniższe we wrzodziejącym zapaleniu odbytnicy.

3. Stężenie kalprotektyny, białka- C-reaktywnego, odczynu opadania krwinek czerwonych i liczby płytek krwi korelowało z aktywnością choroby ocenianą w skali Truelove'a Wittsa.
4. Stężenie kalprotektyny, białka- C-reaktywnego i odczynu opadania krwinek czerwonych korelowało z aktywnością rzutu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego ocenianego w skali PUCAI.
5. Stężenie kalprotektyny, metaloproteinazy-3, białka C-reaktywnego, seromukoidu, odczynu opadania krwinek czerwonych i liczby płytek korelowało z aktywnością endoskopową choroby ocenianą w skali Rachmilewicza.
6. Ocena badanych parametrów zapalnych pozwala na monitorowanie i ocenę wyników leczenia wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci.
7. Wskazane jest prowadzenie dalszych badań nad przydatnością oznaczania kalprotektyny w kale w ocenie gojenia śluzówki jelita grubego oraz dalszych badań nad przydatnością oznaczania metaloproteinaz w surowicy i w zapalnie zmienionych biopsjach jelita grubego oraz biopsjach jelita zdrowego.

Doktorantka wykazała, że u dzieci z wzjg występują nieprawidłowe wartości zdecydowanej większości analizowanych parametrów. Natomiast do monitorowania dynamiki choroby i terapii najbardziej przydatne są jedynie OB i stężenie kalprotektyny w kale, ponieważ wykazywały znamiennej zależność od obu skal oceny klinicznej i skali endoskopowej.

Oceniając pracę uważam, że proporcje poszczególnych części pracy są właściwie dobrane, czytelnie podzielone na rozdziały i podrozdziały.

Cel pracy został jasno sformułowany i koresponduje z tytułem pracy. Metodyka badań została właściwie dobrana do założonych celów badań.

Wyniki przedstawione są w sposób bardzo rzeczowy i jasny. Ryciny i tabele są czytelne i dobrze ilustrują wyniki badań. Konstrukcja tego rozdziału jest bardzo przejrzysta. Autorka opracowała wyniki w sposób bardzo rzetelny z istic benedyktyńską pracowitością.

W rozdziale poświęconym dyskusji Doktorantka wykazała się dużą znajomością zagadnienia, podała właściwą interpretację i krytycznie odniosła się do własnych wyników.

Wnioski są zwięzłe i dobrze sformułowane, w pełni odpowiadają na założone cele badań.

Praca napisana jest w sposób przejrzysty, bardzo starannie. Na podkreślenie zasługuje umiejętność precyzyjnego i klarownego formułowania myśli i bardzo syntetyczny sposób przedstawienia pracy.

Piśmiennictwo jest dobrze dobrane, odpowiednio cytowane, zawiera istotne klasyczne pozycje literaturowe, a głównie opiera się na doniesieniach z ostatnich lat.

Obok wartości poznawczych praca ma duże znaczenie praktyczne, zwłaszcza dla lekarzy zajmujących się nieswoistymi zapaleniami jelit u dzieci.

W pracy napotkałem kilka niejasności:

1. Ilu było chłopców, a ile dziewczynek w grupie dzieci z wzjg? Podane liczby 32 dziewczynki i 13 chłopców sumuje się na 45 dzieci, a nie 46 jak podano w pracy.

2. Na stronie 90 7 wiersz od dołu użyto określenia „stężenia aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego”. Słowo „stężenia” można pominąć albo zastąpić słowem „nasilenia”

3. W następnym zdaniu Doktorantka przyłącza się do opinii cytowanej autorki, że laktoferyna jest najlepszym markerem aktywności wzjg. Tymczasem z recenzowanej dysertacji wynika, że stężenie laktoferyny wykazywało jedynie znamienne różnice pomiędzy dziećmi z wzjg a grupą kontrolną. A na następnej stronie (10 wiersz od góry) Doktorantka podaje następującą uwagę: „Natomiast w przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono podobnej zależności w analizie stężenia laktoferyny w zależności od aktywności choroby u dzieci.”

Daje się chyba zauważyć pośpiech przy pisaniu tej części pracy.

Jak każda dobra praca przynosi odpowiedzi na jedne pytania i stawia zarazem nowe. Mając tak dobry warsztat badawczy warto pokusić się o zbadanie problemu – na ile modulujący wpływ na ogólne wykładniki stanu zapalnego wykazują leki, w tym immunomodulacyjne i glikokortykosteroidy. Czy nie powodują dodatkowej modyfikacji tych parametrów, przez co zmniejszają ich precyzyjność w odzwierciedlaniu zmian słuzówkowych.

Warto poszukiwać odpowiedzi na pytanie - dlaczego w poszczególnych grupach (nawet w remisji) wiele parametrów wykazywało duży rozrzut wartości. Na przykład stężenie kalprotektyny w kale u dzieci z remisją choroby sięgało 2392 ug/g kału (str.46, 60)

Reasumując pracę oceniam wysoko i stwierdzam, rozprawa doktorska lek. Małgorzaty Ruczki pt.: „Ocena wybranych wskaźników stanu zapalnego w diagnostyce wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci” spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 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.) i dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy.

162 4736
Prof. dr hab. n. med. Józef Ryżko
Specjalista chorób dziecięcych
gastroenterolog
Warszawa, ul. Axentowicza 3 m.13