

## Ocena rozprawy doktorskiej

lek. med. Sebastiana Bałusza

pt. „Stężenie wybranych cytokin u chorych z tętniakiem aorty brzusznej”

*Recenzja zlecona przez Radę Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu zgodnie z uchwałą nr 19/IX/2016r. z dnia 7 grudnia 2016r.*

Tętniak aorty brzusznej (TAB) jest miejscowym poszerzeniem aorty równym lub większym od 3cm, znajdującym się poniżej tętnic nerkowych. Rozmiary tętniaków aorty osiągają średnicę od 3,0-15,0cm; podczas gdy u osób powyżej 65 roku życia prawidłowa średnica aorty wynosi  $2,0 \pm 0,51$ cm. Częstość występowania tętniaków w populacji ogólnej waha się od 4 do 9% i zwiększa się z wiekiem. Zależność występowania tętniaków zależy od płci męskiej, podeszłego wieku, palenia tytoniu i obciążającego wywiadu rodzinnego. Natomiast w procesie powstawania tętniaków główną rolę odgrywają trzy mechanizmy patofizjologiczne: zapalenie, proteoliza strukturalnych elementów aorty (głównie elastyny i kolagenu) oraz czynniki biomechaniczne.

U większości pacjentów z TAB w obrębie tętniaków występują wewnątrznaczyniowe zakrzepy, wskazujące na związek między patomechanizmem powstawania tętniaków a procesem hemostazy. Większość tętniaków pozostaje bezobjawowa i zostaje odkryta przypadkowo. Często pierwszym objawem TAB jest jego pęknięcie obciążone dużym ryzykiem zgonu. To właśnie pacjenci z TAB byli przedmiotem badań lek. Sebastiana Bałusza, który oznaczał u nich 4 wybrane cytokiny.

Cytokiny są grupą białek sygnałowych regulujących wiele procesów zachodzących w organizmie, takich jak np.: proliferacja komórek, ich różnicowanie czy migracja. Ich czynność zależy od obecności specyficznych receptorów na powierzchni komórek docelowych i rozpuszczalnych receptorów pozakomórkowych, np. w osoczu.

Aktywność cytokin wykrywa się w mięśniach, tkance tłuszczowej, centralnym układzie nerwowym i w wątrobie. Cytokiny przyczyniają się także do nasilenia procesów zapalnych, zarówno ostrych jak i przewlekłych. W związku z uznaniem patomechanizmu tętniaków aorty za przewlekły proces zapalny celowe jest prowadzenie badań nad cytokinami, szczególnie rzadko oznaczanymi lub nie oznaczanymi w tej grupie pacjentów.

Zagadnieniem tym postanowił zająć się lek. Sebastian Bałusz. Krótki i rzeczowy temat rozprawy odzwierciedla w pełni jej treść. Zasadniczym celem badań omawianych w pracy jest temat zawarty w tytule; zgrabnie ujmujący: co, u kogo i jakie badania będą przeprowadzane. Piśmiennictwo na temat tętniaków aorty jest bardzo obszerne, nieliczne natomiast są publikacje o występowaniu badanych cytokin we krwi pacjentów z tętniakami aorty, szczególnie w tkance tętniaka. Cel badań pracy jest zatem wyraźnie sprecyzowany, metodyka poprawnie zaplanowana i w pracy właściwie realizowana.

Rozprawa ma raczej teoretyczne znaczenie i wnosi nowe elementy poznawcze do patomechanizmu powstawania tętniaków aorty.

Rozprawa doktorska obejmuje 88 stron. W tym wprowadzenie – 28, cel, materiał i metody – 9, wyniki badań własnych - 20, dyskusja wraz z wnioskami oraz streszczeniami polskim i angielskim - 17, a piśmiennictwo - 10. Do rozprawy dołączono także spis treści, wykaz stosowanych skrótów, tabel i rycin – 3 strony.

We wprowadzeniu do pracy doktorant omawia kolejno: klasyfikację tętniaków aorty brzusznej, ich objawy, diagnostykę i leczenie oraz ogólną charakterystykę cytokin w ustroju człowieka z omówieniem roli i działania 4 badanych cytokin: osteopontyny (OPN), osteoprotegryny (OPG), interleukiny 18 (IL-18) i interleukiny 33 (IL-33).

Rozdział ten oparty na dobrej i aktualnej znajomości literatury przedmiotu napisany jest ciekawie i rzeczowo. Wzbogacony został 8 kolorowymi rycinami: dwoma w rozdziale o tętniakach i sześcioma ilustrującymi mechanizm działania badanych cytokin.

Badania przeprowadzone przez doktoranta obejmowały grupę 80 pacjentów z tętniakiem aorty brzusznej, w tym 72 mężczyzn i 8 kobiet w wieku od 63 do 76 lat (średnio 72 lata), operowanych planowo na Oddziale Chirurgii Naczyniowej Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu. Wszyscy pacjenci byli dokładnie przebadani. Mieli dokładnie przeprowadzony wywiad, badania fizykalne i laboratoryjne. Tętniaki aorty rozpoznano w badaniu ultrasonograficznym, tomografii komputerowej oraz arteriografii. Wielkość tętniaków u pacjentów średnio wynosiła 54mm (od 40,39 do 73,65mm). Jako grupę porównawczą przebadano 18 pacjentów (12 mężczyzn i 6 kobiet) z rozpoznaniem zespołu Leriche'a w średnim wieku 61 lat (od 55 do 70 lat). Materiałem wykorzystywanym w badaniu było osocze krwi żyłnej pobierane jednorazowo od pacjentów przed operacją z żyły łokciowej na EDTA oraz wycinek tkankowy pobrany śródoperacyjnie o wielkości 1cm/1cm bezpośrednio z tętniaka aorty brzusznej lub ze ściany aorty powyżej rozwidlenia u pacjentów z zespołem Leriche'a.

We wstępie doktorant omawia rolę i działanie czterech badanych cytokin.

Osteopontyna (OPN) jest wielofunkcyjnym białkiem uczestniczącym w wielu procesach metabolicznych: pośredniczy w migracji, adhezji i przeżywaniu wielu typów komórek. OPN dzięki aktywacji makrofagów odgrywa znaczącą rolę w procesach zapalnych i chorobach autoimmunologicznych.

Osteoprotegryna (OPG) jest białkiem należącym do rodziny receptora TNF (Tumor necrosis factor). In vivo jest czynnikiem propagującym neowaskularyzację. Jej poziom we krwi koreluje ze stopniem zaawansowania procesu miażdżycowego w tętnicach i wskazuje na zwiększoną ekspresję w tkankach tętniaków aorty brzusznej.

Interleukina-18 należy do rodziny interleukiny-1. Syntetyzowana przez komórki układu immunologicznego, takie jak: monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne, nabłonkowe i osteoblasty. Uczestniczy w przewlekłych procesach zapalnych zachodzących w naczyniach krwionośnych; posiada rolę potencjalnej cytokiny biorącej udział w neowaskularyzacji.

Interleukina-33 należy do rodziny interleukiny-1. Posiada funkcje: wewnątrzkomórkowego czynnika o właściwościach regulatora transkrypcji oraz zewnątrzkomórkowej cytokiny. Sugeruje się jej udział w patogenezie wielu chorób. Białko recepturowe ST2 dla IL-33 jest

syntetyzowane przez komórki endotelialne, epitelialne oraz fibroblasty. Sugeruje się także udział tej interleukiny w patogenezie wielu chorób. Ekspresja białka ST2 w osoczu krwi i komórkach endotelialnych aorty może sugerować potencjalny wpływ IL-33 na powstawanie tętniaka aorty brzusznej, również na ewentualny udział pozostałych cytokin w neowaskularyzacji i przewlekłych procesach zapalnych.

Stężenie wybranych cytokin: OPN, OPG, IL-18 i IL-33 w osoczu krwi i homogenatach tkankowych u pacjentów z TAB i zespołem Leriche'a oznaczano metodą immunoenzymatyczną wykorzystując do tego celu dostępne na rynku komercyjne zestawy odczynników. Przeliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu komputerowego pakietu programów statystycznych. W pracy jednak brakuje dokładniejszego opisu zastosowanych metod statystycznych.

Zatem celem rozprawy doktorskiej lekarza Sebastiana Bałusza była ocena i porównanie stężeń oraz korelacja wybranych 4 cytokin: osteopontyny, osteoprotegryny, IL-18 i IL-33 w osoczu krwi i homogenatach tkankowych u pacjentów z tętniakiem aorty brzusznej i zespołem Leriche'a uznanym za grupę referencyjną. W oparciu o uzyskane wyniki przeprowadzonych badań stwierdzono obecność wszystkich czterech cytokin w osoczu krwi i homogenatach tkankowych u pacjentów z TAB i zespołem Leriche'a. W obu tych chorobach w osoczu krwi stężenia cytokin OPN, OPG i IL-33 były podobne i nie różniły się statystycznie istotnie – poza IL-18, której poziom był statystycznie istotnie wyższy u pacjentów z zespołem Leriche'a. Stwierdzono istotne statystycznie korelacje między cytokinami OPN i OPG oraz OPG i IL-33 u pacjentów z TAB, a tylko korelacje między OPN i OPG u chorych z zespołem Leriche'a.

Natomiast w homogenatach tkankowych pobranych śródoperacyjnie badane cytokiny zachowywały się różnie. U pacjentów z tętniakiem aorty w porównaniu do chorych z zespołem Leriche'a stwierdzono istotnie wyższe stężenia OPN i IL-33. Podobny był poziom OPG i niższy był poziom IL-18.

Analizując uzyskane wyniki stwierdza się, że obecne w obu chorobach cytokiny: OPN, OPG, IL-18 i IL-33 biorą udział w procesie przewlekłego zapalenia w chorobach tętnic a nie tylko w tętniaku aorty czy zespole Leriche'a; natomiast cytokiny te nie są swoistymi markerami w patogenezie tętniaków aorty brzusznej.

Jak wynika z tabel ilustrujących stężenia cytokin w homogenatach tkankowych doktorantowi prawdopodobnie sprawiała trudność właściwa ocena ich stężenia i pewnie dlatego przedstawił ich poziomy w ml homogenatu tkankowego tak jak w 1 ml osocza. Zapewnie bardziej właściwa jest ocena badanych cytokin w przeliczeniu na ng/mg białka całkowitego. Istotnie wyższe stężenia OPN i IL-33 w TAB niż w zespole Leriche'a może świadczyć o intensywniejszej przemianie w TAB. Trudno jednak porównywać stężenia cytokin w homogenatach i osoczu krwi bez dokładnego przeliczenia na mg białka w osoczu.

W rozdziale „Omówienie wyników i dyskusja” doktorant przedstawił własne wyniki i porównał je z danymi innych badaczy z ostatnich lat. Rozdział ten, podobnie jak wstęp, oparty na obszernym piśmiennictwie napisany jest rzetelnie i dociekliwie dowodząc dużej wiedzy doktoranta w zakresie podjętego tematu pracy doktorskiej.

Pięć wniosków zostało trafnie wyciągniętych z przeprowadzonych badań. Są one zgodne z założonymi celami pracy.

Piśmiennictwo zebrane na 10 stronach obejmuje 130 publikacji, w tym tylko 3 polskie i 127 zagranicznych. Z wyjątkiem 3 publikacji z lat dziewięćdziesiątych, pozostałe zostały opublikowane po roku 2000; większość pochodzi z ostatnich 5 lat. Publikacje są właściwie dobrane i w pracy poprawnie cytowane.

Praca doktorska lek. med. Sebastiana Bałasa napisana jest starannie, ładnym językiem i stylem.

Pracę tę oceniam wysoko. Wnosi ona przede wszystkim informacje teoretyczne. Uzupelnia wiedzę o patomechanizmie powstawania zmian chorobowych w tętnicach, np. w miażdżycy tętnic i tętniakach aorty brzusznej, i udziale w nich cytokin. Burzy natomiast wcześniejsze poglądy, że cytokiny mogą być specyficznymi markerami diagnostycznymi i prognostycznymi, np. tętniaków aorty brzusznej. Zaznaczyć należy, że jako chirurg lekarz Stanisław Bałas podjął się trudnej pracy, np.: śródoperacyjnego pobierania wycinków tkankowych i sporządzania z nich homogenatów.

Rozprawa doktorska lekarza Stanisława Pałasa Pt. "Stężenia wybranych cytokin u chorych z tętniakiem aorty brzusznej" spełnia warunki Ustawy z dn.14 marca 2003r. „ O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki” art. 13 ust.1 (Dz. U. Nr 65 poz. 595, ze zm. W Dz. U. z 2005r. Nr 164 poz. 1365 w Dz. U. z 2011r Nr 85 poz. 453) oraz § 6.3 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 30 października 2015r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz postępowaniu o nadaniu tytułu profesora.

Przeto zwracam się do Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. med. Sebastiana Basza do dalszych etapów przewodu doktorskiego i przyznanie mu za tę pracę nagrody.

*Maria Kotschy*

prof. dr hab. med. Maria Kotschy

Prof. dr hab. med.

*Maria, Hanna Kotschy*

specjalista chorób wewnętrznych  
nematologia

50-368 Wrocław, ul. O. Bajki 23/20  
tel. 071/328 15 17 4198098