

*Prof. dr hab. med. Krzysztof Linke
Katedra i Klinika Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i
Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu.*

Recenzja

**pracy doktorskiej lek. med. Małgorzaty Niedzielskiej
p.t. „Znaczenie kinazy pirogronianowej guza (tumor M2-PK) w
diagnostyce polipów jelita grubego”.**

*Praca wykonana w Katedrze i Klinice Gastroenterologii i Hepatologii Uniwersytetu
Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.*

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Leszek Paradowski

Przedstawiona do recenzji praca lek. med. Małgorzaty Niedzielskiej podejmuje interesujący temat określenia miejsca i znaczenia testu kinazy pirogronianowej guza (tumor M2-PK), jego czułości i swoistości w diagnostyce polipów jelita grubego. Biorąc pod uwagę fakt, że w ostatnich latach liczba rejestrowanych przypadków nowotworów jelita grubego wykazuje najszybszy przyrost wśród wielu tego typu schorzeń, w tym również i w Polsce, bardzo ważnym problemem staje się możliwie szybka diagnostyka tego schorzenia, jak również wczesna wykrywalność stanów przednowotworowych w obrębie tego odcinka przewodu pokarmowego. A do takich właśnie należy wiele zmian polipowatych zlokalizowanych w jelicie grubym. Ostatnie, dostępne dane wskazują, że w ostatnim roku zachorowalność na raka jelita grubego w Polsce wzrosła do 9417 w przypadku mężczyzn i 7546 wśród kobiet, a w tej grupie odnotowuje się zgony związane z tym schorzeniem odpowiednio u 6127 mężczyzn i 5117 kobiet. Umieralność wynosi więc odpowiednio 65% u mężczyzn i blisko 68% u kobiet. Właśnie te alarmujące statystyki

powodują, że i w Polsce, a także w świecie podejmuje się szereg działań dla poprawy wydolności diagnostycznej zarówno samego nowotworu, jak i stanów przednowotworowych. Problem rozpoznawalności polipów jelita grubego, z których znacząca ilość stanowi uznany proces przednowotworowy koncentruje uwagę badaczy, których celem jest możliwie wczesna diagnostyka takich stanów w populacji, a w konsekwencji możliwości leczenia, z reguły endoskopowego tak aby nie doszło do rozwoju raka.

Recenzowana praca doktorska Małgorzaty Niedzielskiej ma układ typowy, gdzie:

- wstęp zawarty jest na 31 stronach;
- założenia i cele pracy to kolejne 2 strony,
- cele ujęto w 7 punktach:
 - *Analiza częstości występowania poszczególnych typów histopatologicznych polipów jelita grubego w badanej grupie (populacji polskiej) i ich charakterystyka pod względem morfologii (wielkości, ilości) oraz lokalizacji w jelicie grubym.*
 - *Analiza czułości i swoistości badania tumor M2-PK w kale w wykrywaniu polipów jelita grubego w grupie objętej badaniem.*
 - *Analiza czułości i swoistości badania tumor M2-PK w kale w wykrywaniu gruczolaków jelita grubego w grupie objętej badaniem.*
 - *Określenie korelacji pomiędzy oznaczaniem poziomu tumor M2-PK w kale a rozpoznaniem histopatologicznym i morfologią (wielkość, ilość) usuniętych polipów w trakcie kolonoskopii.*
 - *Analiza czułości i swoistości dotychczasowych nieinwazyjnych badań wykorzystywanych w badaniach profilaktycznych tj. badania na krew utajoną w kale oraz antygenów nowotworowych (CEA, CA 19.9) w badanej grupie pacjentów.*
 - *Określenie korelacji pomiędzy oznaczeniem poziomu tumor M2-PK w kale a badaniem na krew utajoną w kale oraz poziomem antygenów nowotworowych (CEA i CA 19.9).*
 - *Analiza statystyczna danych klinicznych (wywiad rodzinny i wybrane objawy) w odniesieniu do oznaczania poziomu tumor M2-Pk w kale.*
- materiał i metody zajmują 6 stron;

- wyniki to 33 strony (wraz z tabelami i wykresami graficznymi);
- dyskusja to kolejne 14 stron;
- wnioski w liczbie 7;
- piśmiennictwo – 204 pozycji literaturowe zamykają pracę.

W pracy znajdują się jeszcze:

- streszczenia w języku polskim i angielskim;
- wykaz tabel i rycin (14 rycin);
- wykaz użytych skrótów.

We wstępie podzielonym na cztery główne podrozdziały przedstawiono aktualne dane, które w pierwszej części określają współczesną wiedzę na temat polipów jelita grubego, zasady ich podziału i klasyfikacji bazujących na ich strukturze makroskopowej ocenianej w badaniu endoskopowym. Ten podział określono przyjmując obowiązującą od 2000 roku klasyfikację paryską oraz jej późniejsze modyfikacje. Przyjęcie tego podziału pozwoliło na precyzyjne określenie poszczególnych typów tych zmian w jelicie grubym. Ważnym elementem, w tym fragmencie pracy, jest również oparcie się na klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia z 2010 roku, które jednoznacznie pozwalają na zróżnicowanie polipów na gruczolaki traktowane jako zmiany jednoznacznie przednowotworowe, polipy ząbkowane z których znacząca część również wykazuje duży potencjał przekształcenia w nowotwory jelita grubego oraz polipy typu hamartomatyczne, gdzie ryzyko rozwoju procesu nowotworowego jest zróżnicowane i waha się w granicach 10-50%. W dalszej części tego rozdziału przedstawiono różnice w budowie histologicznej polipów śluzówkowych, która ma bardzo duże znaczenie dla określenia potencjalnej możliwości transformacji nowotworowej. W dalszej części omówiono między innymi rodzaje polipów, które klasyfikowane są jako polipy ząbkowane, a które dzielą się na 4 rodzaje podtypów, wśród których wymieniono polipy hiperplastyczne, które nie wykazują potencjalnej możliwości przejścia w nowotwór oraz dwa pozostałe typy wykazujące potencjalną możliwość obecności w nich zmian o charakterze dysplazji, a więc o dużym potencjale przejścia w raka jelita grubego. W kolejnym fragmencie *wstępu* przedstawiono różne postaci zespołów polipowatości jelita zwracając jednocześnie uwagę na ich klasyfikację, która opiera się o badania wybranych genów, w ten sposób określając ich potencjalną możliwość

przekształcenia w nowotwór jelita. I wreszcie zwrócono również uwagę na obowiązujące obecnie zasady rozpoznawania zespołów polipowatości, przyjęte postępowanie terapeutyczne oraz możliwości terapii endoskopowej bądź wybór alternatywnego leczenia operacyjnego. Szczególne miejsce w tej grupie chorych ma zasada nadzoru kolonoskopowego. W kolejnym podrozdziale przedstawiono z jednej strony dane statystyczne zachorowalności i umieralności z powodu raka jelita grubego. Wskazano na wyraźny wzrost występowania tego rodzaju nowotworu, zwrócono uwagę na stale wzrastającą zachorowalność i dużą umieralność w Polsce z powodu tego schorzenia i to zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Omówiono także obowiązujące obecnie modele postępowania diagnostycznego: badania na obecność krwi utajonej w kale, badania endoskopowe i to zarówno sigmoidoskopię, jak kolonoskopię, Omówiono także znaczenie określania aktywności markerów nowotworowych oraz obowiązujące obecnie modele programów badań przesiewowych, zarówno w świecie, jak i w naszym kraju. Zakończeniem *wstępu* jest dokładne omówienie zasad przyjętej metodologii określania aktywności kinazy pirogronianowej (tumor M2-PK) oraz określenia miejsca tego badania w diagnostyce patologii jelita grubego. Opisano charakterystykę poszczególnych izoform tej kinazy, zwracając szczególną uwagę na jedną z jej form – postać dimeryczną. Ta właśnie izoforma kinazy pirogronianowej określana jako biomarker, możliwa jest do wykazania zarówno w kale, jak i w osoczu. Uważa się, w oparciu o dotychczasowe doniesienia, że M2-PK może stanowić użyteczny wskaźnik diagnostyczny w rozpoznawaniu patologii jelita grubego.

Postawione przez Autorkę cele badawcze sformułowane w siedmiu punktach określone zostały w bardzo praktycznym zakresie.

Z jednej strony podjęto próbę określenia czułości i swoistości testu kinazy pirogronianowej w wykrywaniu różnych typów polipów jelita grubego, z drugiej zaś zwrócono uwagę na wydolność tej metody w diagnostyce gruczolaków jelita. Jednocześnie poprzez określenie aktywności badanego enzymu oraz morfologii i histologii identyfikowalnych polipów można by określić miejsce i znaczenie tej metody w identyfikacji tego rodzaju patologii jelitowej. Pozostałe cele to próba korelacji innych, przyjętych w pracy badań dla ich porównawczej oceny i znaczenia w diagnostyce. I wreszcie podjęto także próbę określenia zależności między oznaczaniem aktywności kinazy a danymi uzyskanymi drogą wywiadu z chorym oraz

wybranych objawów klinicznych. Sformułowane cele pracy są bardzo szerokie, ale jednocześnie stanowią logiczny ciąg koncepcji pozwalających na szeroką interpretację przydatności ocenianego testu. Punktem docelowym jest więc określenie możliwości i przydatności klinicznej testu kinazy pirogronianowej w praktyce.

Do badań zakwalifikowano znaczącą liczbę badanych - 245 osób, które podzielono na dwie grupy. Grupa oceniana to 164 osoby, u których w badaniu endoskopowym wykazano obecność polipa, bądź polipów zlokalizowanych w jelicie grubym, druga natomiast to 81 badanych u których nie stwierdzono obecności polipów jelita grubego i stanowiła grupę kontrolną. Kryterium wykluczenia – chorzy z zapalnymi chorobami jelit – sformułowano jasno i jednoznacznie. Pozwoliło to na jednoznaczną interpretację uzyskanych wyników. Standaryzacja zarówno zasad pobierania, przygotowywania, jak i oznaczania aktywności kinazy pirogronianowej nie budzi zastrzeżeń. Podobnie w zakresie oznaczania obecności krwi utajonej w pobieranych próbkach kału spełniała aktualnie wymagane kryteria standaryzacji. Również przedstawione w pracy zasady prowadzenia badań kolonoskopowych, wykonywanych polipektomii endoskopowych, ich ocena histologiczna nie budzą zastrzeżeń. Wybór i dobór metod statystycznych, ich wykorzystanie w pracy, są dobrym przykładem ich właściwego wykorzystania. Zastosowane badania ankietowe stanowią interesujący sposób uzupełnienia i poszerzenia spektrum danych w grupie osób biorących udział w badaniu.

Uzyskane wyniki przedstawiono w formach: tabelarycznej, jak i graficznej. W prezentacji uzyskanych wyników ujęto również dane statystyczne, które w przypadku ich istotności statystycznych pozwala na ich dogłębną i szczegółową analizę. I tak na przykład rycina 4.2 graficznie przedstawia uzyskane dane (zastosowano w tym przypadku test chi-kwadrat) są bardzo dobrym przykładem możliwości jednoznacznej interpretacji uzyskanych danych, w tym wypadku oceny histologicznej i zależności od płci grup badanych. Podobnie inne zbiorcze wykresy graficzne dotyczące częstości występowania polipów jelita w poszczególnych grupach wiekowych, a w szczególności gruczolaków w grupie badanej. Wyniki te wskazują, że obserwowany w wielu innych badaniach, podkreślany zresztą od pewnego czasu przez badaczy amerykańskich, że należałoby obecnie rozważać wcześniejszą kwalifikację do badań kolonoskopii przesiewowych poczynając od 40-tego roku życia. Zwraca uwagę też fakt, że w grupie badanej dysplazję niskiego stopnia obserwowano u 60 badanych co

stanowi 36,6%, a dużego stopnia u 15 endoskopowanych czyli u 9,1%. Łącznie więc nadzorowi powinno podlegać 75 chorych, w tym 15 szczególnie intensywnemu jako osoby ze zwiększonym ryzykiem raka tego odcinka przewodu pokarmowego. Interesująco przedstawiają się też wyniki badań aktywności kinazy pirogronianowej. W przeprowadzonych badaniach wykazano różnice w zakresie czułości, jak i swoistości testu badanej kinazy w odniesieniu zarówno co do obecności polipa w jelicie, jak i zależności od jego struktury histologicznej, czy też średnicy polipa. I tutaj również należy zwrócić szczególną uwagę na zamieszczone w tej części pracy histogramy, które w jasny i przystępny sposób przedstawiają uzyskane wyniki, co pozwala jednocześnie na zbiorczą analizę uzyskanych danych i w ten sposób na bardziej czytelną oraz jednoznaczną ich interpretację.

W dalszej części wyników zaprezentowano dane o obecności lub nieobecności krwi utajonej w badanych próbkach kału. Zwraca uwagę stosunkowo duża swoistość tego badania, ale równocześnie niska jego czułość. Umieszczone w końcowej części tego podrozdziału uzyskane wyniki w postaci diagramów, a więc ocena aktywności badanej kinazy pirogronianowej oraz liczba usuniętych polipów, szczególnie o typie gruczolaka z pozostałymi wskazują na dobrą korelację (znamiennosc statystyczna). Warto również zauważyć, że wstępnicą była 3 co do częstości występowania polipów w obrębie całego jelita grubego. Fakt ten ma duże znaczenie praktyczne i przemawia jednoznacznie, że badanie sigmoidoskopowe wyraźnie ustępuje badaniu kolonoskopowemu.

W świetle uzyskanych danych podkreślić należy szczególną wartość oznaczania aktywności kinazy w przypadkach przemiany nowotworowej oraz zmian cewkowych czy też kosmkowo-cewkowych lub kosmkowych w polipie [100% : 65,2% vs 41,7 : 40%]. Oczywiście wymaga to potwierdzenia w większym materiale badanych. Natomiast analiza statystyki aktywności M2-PK oraz usuniętych gruczolaków, zależności między aktywnością badanej kinazy wnoszą interesujące dane (wyraźnie w.w. trendy), choć również i te tendencje wymagają jeszcze dalszych badań. Ocena stężeń antygenu karcinoembrionalnego (CEA), czy markera CA 19.9 nie wnoszą istotnej informacji do naszej wiedzy w zakresie możliwości diagnostycznych. Potwierdza to obserwowany wcześniej fakt stosunkowo mniejszej wartości tych oznaczeń. Tutaj niestety, w wynikach statystycznych nie uzyskano pozytywnych danych, co stanowi zresztą potwierdzenie konieczności prowadzenia

dotychczasowych badań przesiewowych, czyli kolonoskopii w poszukiwaniu patologii przednowotworowej i nowotworowej w jelicie grubym.

W dyskusji Autorka krytycznie analizuje uzyskane wyniki konfrontując je z danymi dostępnego i bardzo dobrze dobranej literatury. Warty podkreślenia jest fakt, że w prowadzonych badaniach blisko ¼ zmian polipowatych zlokalizowana była w obrębie części wstępującej jelita grubego. Wskazuje to na fakt, że również w naszej populacji, znacząca liczba patologii znajduje się w tym obszarze jelita grubego. Tak więc dziwne wydaje się, że w wielu krajach świata, w tym również w Stanach Zjednoczonych, do badań przesiewowych wykorzystywane są sigmoidoskopy. Uzyskane w pracy wyniki przy użyciu testu kinazy pirogronianowej: czułość 58,2% i swoistość 65,8% są niezłe, choć nadal nie spełniają jeszcze naszych oczekiwań. Biorąc jednak pod uwagę, że dane te są znacząco lepsze w grupie badanych, gdzie średnica polipa wynosi > 10mm, to uzyskane dane są akceptowalne. Zaskakujące jest natomiast, że nie ma zależności między aktywnością badanej kinazy (nie obserwowano wzrostu aktywności), a ilością usuniętych polipów.

Warto też wspomnieć, że w polipach o średnicy < 10 mm ryzyko rozwoju nowotworu jest też znacząco mniejsze. Słuszne jest więc twierdzenie, że test aktywności M2-PK jest cennym narzędziem uzupełniającym dotychczasowe metody diagnostyki przesiewowej w zakresie poszukiwań patologii jelita grubego. Wskazują na to uzyskane wyniki, zarówno w zakresie czułości, jak i swoistości tego badania, a porównanie badań tej kinazy z badaniem na krew utajoną wskazuje na wyraźną przewagę badania M2-PK. Podobnie zresztą interesujące są spostrzeżenia w zakresie różnic w aktywności kinazy pirogronianowej w przypadkach istnienia polipów gruczolowych w porównaniu z polipami hiperplastycznymi. Słusznie również Autorka zauważa, że uzyskane dane wymagają potwierdzenia w większych grupach badanych, choć zagadnienie, jak podkreśla, nadal ma dość skąpe dane literaturowe.

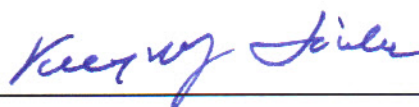
Uzyskane wnioski w liczbie 7 są w pełni udokumentowane w prezentowanych wynikach badań i w pełni odpowiadają na przyjęte cele pracy, jednocześnie też stanowią istotny element poznawczy w zakresie oceny wprowadzonej metody określania aktywności kinazy pirogronianowej w patologii jelita grubego. Mają one także znaczący aspekt kliniczny. Potwierdzają one również niską wartość oznaczanie wybranych markerów nowotworowych (CEA i CA 19.9) oraz wskazują, że badania na obecność krwi utajonej mają stosunkowo ograniczone znaczenie w wykrywaniu polipów jelita grubego, niezależnie od ich struktury histologicznej.

Zebrane pozycje piśmiennictwa w liczbie 204 pozycji są starannie wybrane, dobrze ilustrują obecny stan wiedzy w zakresie omawianych tematów i pozwalają na szeroką i swobodną dyskusję wyników własnych z danymi zawartymi w światowej literaturze.

Z uwag krytycznych to moim zdaniem zamiast - „poziom” kinazy pirogronianowej - warto by określać jako „aktywność kinazy”, bowiem w tym przypadku mówimy o enzymie.

Praca w zakresie poruszanej tematyki, jej zakres, jak i wartość kliniczna, a także sposób doboru metod badawczych, jak i prezentacja wyników oraz uzyskane wyniki zasługują na wyróżnienie.

W oparciu o pozytywny wynik dokonanej przeze mnie rozprawy doktorskiej oraz w pełnym przekonaniu, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa lekarz medycyny Małgorzaty Niedzielskiej p.t. „Znaczenie kinazy pirogronianowej guza (tumor M2-PK) w diagnostyce polipów jelita grubego” spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie lekarz medycyny Małgorzaty Niedzielskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. med. Krzysztof Linke

Poznań, dnia 2 wrzesień 2015 r.