

Prof. zw.dr hab.n.med. Andrzej Wiczowski

Piekary Śląskie 22.12.2017

Akademia Techniczno-Humanistyczna

Wydział Nauk o Zdrowiu

Katedra Zdrowia Publicznego

Bielsko-Biała

Ul. Willowa 2

Recenzja

Rozprawy doktorskiej lek. Krzysztofa Tomaszka pt. Związek komórek NK z zaawansowaniem włóknienia u chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, wykonanej pod kierunkiem prof. dr. hab. n.med. Andrzeja Gabriela.

Aktualna wiedza na temat włóknienia wątroby w przebiegu przewlekłego zapalenia wywołanego wirusem HCV wskazuje na znaczący udział komórek NK. Komórki te pobudzone cytokinami prozapalnymi gromadzą się w wątrobie i wykazują działanie przeciwzwłóknieniowe polegające na hamowaniu lub niszczeniu komórek gwiazdzistych. Promotor pracy opublikował artykuły na temat roli komórek NK w procesie włóknienia a Doktorant stawia sobie za zadanie analizę składu podtypu komórek NK w dwóch grupach osób chorych na pzw typu C z niewielkim i zaawansowanym włóknieniem wątroby. Celem pracy jest również zbadanie korelacji między częstością fenotypów komórek NK w krwi i w bioptatach wątroby . Należy podkreślić, że cele pracy są bardzo precyzyjnie sformułowane i dobrze uzasadnione Wstępem . We Wstępie Autor kolejno omawia epidemiologię zakażeń wirusem C , budowę wirusa, jego cykl życiowy, przedstawia mechanizmy reakcji układu odpornościowego na zakażenie a na zakończenie koncentruje się na komórkach NK i ich roli w patomechanizmie włóknienia wątroby.

Materiałem do badań były 53 osoby dorosłe z rozpoznaniem pzw typu C, zakwalifikowane do leczenia przeciwwirusowego. W procesie kwalifikacji przeprowadzono badanie histopatologiczne bioptatu wątroby a na zdigitalizowanych obrazach preparatów z bioptatu dokonano cyfrowej analizy numerycznej . Obliczono odsetek i gęstość populacyjną limfocytów CD56. W krwi obwodowej chorych oznaczono liczbę i skład odsetkowy komórek

NKCD56CD16 oraz fenotypów komórek NK CD62⁺L, CD62⁺L94⁺, CD27⁺, Cd127⁺Cd27⁺ oraz CxCR3⁺CD27⁺ metodą cytofluorymetryczną. Duży podrozdział rozdziału Metody Autor przeznaczył na omówienie digitalizacji i analizy cyfrowej zeskanowanych obrazów z preparatów histologicznych wykonanych z bioptatów wątroby. Przy pomocy odpowiedniego oprogramowania analitycznego Quant Center f-my 3D Histech za pomocą modułów HistoQuant i Nuclear Quant analizował zeskanowane obrazy wyznaczając powierzchnię wybranego fragmentu obrazu, liczbę komórek i współczynnik gęstości populacyjnej. Dokumentację przeprowadzonych badań przedstawił na 21 czytelnym rycinach.

Analizę cytofluorymetryczną wykonano w Pracowni Immunologicznej Laboratorium PSK 1 w Zabrze za pomocą cytofluorymetru BD FACS Count II firmy Becton Dickinson. Wyniki analizy dokumentuje rycina 22.

Do analizy wyników badań Doktorant zastosował dobrze dobrane metody statystyczne. Wyniki badań przedstawił w formie czytelnym tabel i wykresów porównując odsetki komórek NK i ich fenotypów między grupą chorych o niskim zaawansowaniu i wysokim zaawansowaniu procesów włóknienia. Przeprowadził również analizę korelacji między odsetkami komórek NK poszczególnych fenotypów a gęstością populacyjną komórek NK w preparatach z bioptatów wątroby. W prawie wszystkich przypadkach otrzymał istotną dodatnią wartość współczynnika korelacji oprócz jednej ujemnej dla komórek NKCD94⁺ i wskaźnika gęstości populacyjnej limfocytów w preparacie wątroby.

W dyskusji Autor omawia złożone relacje między komórkami gwiazdzistymi a limfocytami NK i ich poszczególnymi fenotypami. Zaobserwował istotnie wyższą liczbę komórek NK o fenotypie CD56⁺ i CD16⁺ w krwi chorych z zaawansowanym włóknieniem, natomiast u chorych z niskim zasięgiem włóknienia wykazał więcej komórek o fenotypie CD62L⁺, które zdaniem innych autorów charakteryzują się większą aktywnością cytolityczną. Doktorant zwrócił także uwagę na istotną rolę chemokin w zaawansowaniu włóknienia i podkreślił znaczenie fenotypu NKCXCR3⁺CD27, który również był przedmiotem badań. Stwierdził istotnie mniejszy odsetek tych komórek u chorych z zaawansowanym włóknieniem, obserwował również wysoką korelację między odsetkiem komórek o fenotypie CXCR3⁺CD94 w krwi a CD56 w wątrobie, co Jego zdaniem

wskazuje na istotną rolę cytokin oddziałujących na receptor CXCR3 w aktywowaniu migracji komórek NK do wątroby.

Na podstawie przeprowadzonej analizy liczebności poszczególnych fenotypów w krwi i ich korelacji z gęstością populacyjną limfocytów w preparatach z bioptatów sformułował wniosek o kumulacji w wątrobie u chorych z zaawansowanym włóknieniem upośledzonych funkcjonalnie komórek NK w stosunku do komórek gwiaździstych. Zdaniem Doktoranta jest to przyczyną niedostatecznego ograniczania aktywności komórek gwiaździstych u tych chorych.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona do recenzji praca jest przykładem podjęcia bardzo interesujących badań nad mechanizmami immunologicznymi procesu włóknienia wątroby, doskonale zaplanowane i rzetelnie przeprowadzone doświadczenie pozwoliło na sformułowanie wniosków odpowiadających celom pracy. Doktorant wykorzystał współczesne metody analizy obrazu histologicznego i umiejętnie połączył je z wynikami badań cytofluorometrycznych. Przeprowadził dyskusję na dobrym poziomie w oparciu o bardzo specjalistyczne piśmiennictwo i sformułował pięć uzasadnionych wniosków.

Na podstawie wyżej przeprowadzonej oceny rozprawy doktorskiej lek. Krzysztofa Tomaszka mogę stwierdzić, że rozprawa pt. "Związek komórek NK z zawansowaniem włóknienia u chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C" spełnia warunki określone w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z póź. zm.) . Na tej podstawie zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach z wnioskiem o dopuszczenie lek. Krzysztofa Tomaszka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie składam wniosek o wyróżnienie w/w rozprawy doktorskiej.

Andrzej Wiczkowski
Andrzej Wiczkowski