

dr hab. n.med. Marek Waluga
Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii
Wydział Lekarski w Katowicach
Śląski Uniwersytet Medyczny

Katowice, 19.12.2018 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Natalii Katarzyny Grzegorzak

pt. „Stężenie rozpuszczalnej formy liganda indukującego proliferację (APRIL) oraz wybranych wskaźników biochemicznych w surowicy krwi pacjentów z rakiem, gruczolakiem lub wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego”,

której promotorem jest

dr hab. n. med. Barbara Stawiarska-Pięta, z Katedry i Zakładu Patologii Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu.

Choroby jelit stanowią niezwykle istotną część współczesnej gastroenterologii. Wśród tych chorób najistotniejsze miejsce zajmują: rak jelita grubego (RJG), gruczolaki jako stany przedrakowe oraz nieswoiste choroby zapalne jelit (NChZJ), w tym wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG).

RJG to od początku istnienia gastroenterologii jeden z największych problemów medycznych na świecie. Zajmuje niezmiennie od wielu dziesiątek lat niechlubne, czołowe miejsca (pomiędzy 2. a 4.) wśród przyczyn zachorowań i zgonów. Mimo coraz doskonalszych narzędzi diagnostycznych i terapeutycznych, a także wprowadzania programów badań przesiewowych, w wielu krajach świata jego częstość ciągle wzrasta. Do tych niechlubnych pod tym względem krajów należy także Polska. Co więcej, Polska należy do krajów, gdzie stosunkowo duża grupa pacjentów ma postawione rozpoznanie w znacznym stopniu zaawansowania tej choroby. Przyczyn takiego stanu rzeczy jest wiele. Należy do nich niewystarczający dostęp pacjentów do specjalistów oraz odpowiednich badań. Jeden z najwcześniejszych i najlepszych w świecie programów przesiewowych, jaki od lat jest prowadzony w Polsce z udziałem kilkudziesięciu ośrodków kolonoskopowych obejmuje niestety tylko część polskiej popu-

lacji. Z drugiej strony jest to program polegający na wykonywaniu pełnej kolonoskopii u osób spełniających określone kryteria. Jest to metoda najdokładniejsza dla wykrywania nowotworów jelita grubego. Nawet kraje znacznie bogatsze niż Polska, w swoich programach badań przesiewowych opierają się często, przynajmniej częściowo, na mniej dokładnych metodach. Istnieje więc potrzeba poszukiwania nowych metod diagnostycznych wspomagających możliwości wczesnego wykrywania RJG.

NChZJ stanowią jedno z największych wyzwań współczesnej gastroenterologii. Etiopatogeneza oraz patofizjologia tych chorób są bardzo złożone i tylko częściowo poznane. Częstość ich występowania, zwłaszcza w społeczeństwach krajów rozwiniętych, wydaje się wzrastać. Są to typowe choroby przewlekłe i choć występują okresy remisji, w chwili rozpoznania zakłada się, że zarówno wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG) jak i choroba Leśniowskiego-Crohna (ChL-C) będą trwałe przez całe życie chorego. Przebieg kliniczny jest niekiedy ciężki, zagrażający życiu, często też występują powikłania. Obie choroby, w szczególności jednak WZJG jest chorobą zwiększającą ryzyko wystąpienia RJG. Ryzyko to jest proporcjonalne do czasu trwania choroby, nasilenia i czasu trwania zaostrzeń, rozległości zmian, a odwrotnie proporcjonalne do skuteczności leczenia, długości remisji i innych czynników. Coraz większymi problemami stają się steroidozależność i steroidoporność. Pomimo, że kolonoskopia jest metodą niezastąpioną w diagnostyce NChZJ, a także ocenie stopnia zaawansowania choroby i jej powikłań, w tym RJG, poszukuje się dodatkowych metod, najlepiej mało inwazyjnych, pomagających w ocenie samej choroby jak i jej konsekwencji.

Doktorantka podjęła się ważnego zadania poszukiwania wskaźników laboratoryjnych trzech ważnych chorób jelita i próby oceny ich znaczenia dla określenia stopnia zaawansowania tych chorób.

Układ pracy jest typowy i składa się z następujących rozdziałów: „Wstęp”, „Założenia i cele pracy”, „Materiał i metody”, „Wyniki i ich omówienie”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Piśmiennictwo”. Na początku pracy Doktorantka zamieszcza „Spis treści”, „Wykaz skrótów”, „Wykaz tabel” i „Wykaz rycin” a na końcu „Streszczenie” w wersji polskiej i angielskiej.

We wstępie Doktorantka omawia epidemiologię, etiologię, objawy kliniczne, diagnostykę i leczenie RJG, gruczolaków jelita grubego oraz WZJG, następnie charakterystykę oznaczanych parametrów, w tym antygenu rakowo-zarodkowego (CEA), białka C-reaktywnego (CRP), interleukiny 6 (IL-6), a wreszcie głównego celu swojej pracy – rozpuszczalnej formy liganda indukującego proliferację (APRIL). Omawia jego budowę, szlak

transdukcji sygnałowej po połączeniu APRIL z receptorem, występowanie APRIL w fizjologii i patologii, ze szczególnym uwzględnieniem możliwości zastosowania go w diagnostyce nowotworów i chorób z autoagresji a nawet potencjalne możliwości wykorzystania w terapii.

W rozdziale „Założenia” Doktorantka szczegółowo wskazuje, że podjęte przez Nią badania są uzasadnione. Część tych informacji można by przenieść do rozdziału „Wstęp”.

Następnie formułuje 3 główne „Cele pracy”, z których cel 1. i 2. są bardzo dobrze sformułowane, nowatorskie i uzasadnione. Cel 3. jest nieco ryzykowny, gdyż CEA służy raczej do monitorowania pacjentów już leczonych z powodu raka (o czym zresztą Doktorantka wspomina zarówno we wstępie jak i później w dyskusji). Jego bardzo niska (a niemal żadna) wartość jako ewentualnego wskaźnika istnienia stanów przedrakowych jest powszechnie znana. Natomiast CRP wzrasta zarówno w różnych nowotworach jak i wszelkiego rodzaju stanach zapalnych, a Il-6 jest również dość powszechnie występującą interleukiną, w różnorodny sposób zachowującą się w stanach zapalnych i nowotworach. Dlatego choć cel ten zasadniczo ma uzasadnienie, to sugerowałbym nieco inne jego sformułowanie i doprecyzowanie.

W kolejnym rozdziale Doktorantka formułuje ambitne „Cele szczegółowe”, ustosunkowując się od razu do planowanych metod statystycznych.

W rozdziale „Materiał i metody” omawia włączone do badania grupy pacjentów i szczegółowo przedstawia zastosowane metody laboratoryjne. Pomimo dość dużej liczby chorych włączonych do badania, przy szczegółowym podziale na podgrupy liczba badanych w tych podgrupach nie jest oszałamiająca. Szczególnie w fazie aktywnej WZJG było jedynie 7 pacjentów, co może mieć wpływ na uzyskany wynik.

Zastosowane metody laboratoryjne są omówione bardzo dokładnie. Następnie Doktorantka przedstawia zastosowane w pracy metody statystyczne. Są one adekwatne do postawionych celów oraz materiału badawczego i świadczą o dojrzałym podejściu naukowym Doktorantki.

W podrozdziale „Wyniki i omówienie” Doktorantka szczegółowo omawia uzyskane rezultaty swoich badań. Stwierdziła, że najwyższe stężenie APRIL występowało u chorych z RJG, a najniższe w grupie kontrolnej. Nie stwierdzono różnic w stężeniach APRIL w grupie kontrolnej i zapaleniach oraz w grupie kontrolnej i gruczolakach; średnie stężenie tego parametru w gruczolakach i WZJG było istotnie niższe w stosunku do obserwowanego w rakach.

Doktorantka stwierdziła także generalnie wyższe stężenie CEA, CRP a także Il-6 w bardziej zaawansowanych stopniach zaawansowania w klasyfikacji TNM, choć brak było znamiennych różnic pomiędzy stopniem II a III. Autorka dokonuje też analizy stężeń badanych parametrów przed i po leczeniu chirurgicznym co może mieć wydźwięk praktyczny. W kolejnych podrozdziałach analizuje stężenie badanych parametrów w zależności od typu histologicznego gruczolaka, ich wielkości, stopnia dysplazji, lokalizacji. W następnym podrozdziale analizuje stężenia w surowicy poszczególnych parametrów w zależności od fazy zapalenia WZJG. Dalej Doktorantka przeprowadza analizę statystyczną korelacji pomiędzy zmiennymi a także dokonuje analizy krzywych ROC. Uzyskane wyniki są w pracy szczegółowo przedstawione i dodatkowo zilustrowane 26 tabelami oraz 20 rycinami (z których część składa się z 4 wykresów).

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka dokładnie analizuje uzyskane przez siebie wyniki na tle przytaczanego piśmiennictwa. Należy podkreślić dużą dojrzałość dyskusji i dobre wyczucie naukowe poruszanych zagadnień, tym bardziej, że nie jest lekarzem.

Drobne uwagi:

1. WZJG jest faktycznie uważane za stan przedrakowy. Z drugiej strony określenie to lepiej nadaje się do określania takich zmian histopatologicznych jak np. dysplazja (neoplazja). Ponadto ryzyko rozwoju raka na bazie WZJG zależy od całego szeregu czynników, a w przypadku gdy zasięg choroby u konkretnego chorego nigdy nie przekracza odbyticy, ryzyko to jest porównywalne z ryzykiem w ogólnej populacji (wg danych brytyjskich i amerykańskich). Dlatego proponowałbym raczej określenie, że jest to choroba zapalna zwiększająca ryzyko powstania raka, niż wprost stan przedrakowy (str.17).
2. W podrozdziale 1.2.3. „Diagnostyka” (str.19) i/lub 1.2.4. „Leczenie”, należałoby dodać, że w ocenie stopnia zaawansowania raka i ewentualnego nacieku ściany jelita szczególne znaczenie ma ocena histopatologiczna linii cięcia polipa i stwierdzenie czy ta linia jest wolna od utkania raka czy też nie, a także jaka jest ewentualna odległość pomiędzy linią cięcia a obecnością komórek raka, ponieważ ta ocena ma decydujące znaczenie co do radykalności polipektomii, a także dalszych decyzji, czy pacjent powinien być poddany resekcji chirurgicznej, czy też wystarcza ściśle określony nadzór.
3. W podrozdziale 1.3.2. „Objawy kliniczne” (str.21) dotyczącym objawów WZJG doktorantka wspomniała, że rzadkim, ale źle rokującym powikłaniem pozajelitowym jest pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych. Należy w tym miejscu uzupełnić, że powikłanie to dotyczy kilku procent chorych z WZJG, nie jest więc tak rzadkie; należałoby

także wspomnieć i skonkretyzować (z uwagi na wagę tego zagadnienia), że to złe rokowanie wynika głównie z bardzo dużego ryzyka rozwoju raka dróg żółciowych.

4. Doktorantka pisze na stronie 54, że stwierdziła wyższe stężenie APRIL u pacjentów z rakiem w stadium G1 i G2 niż G3. Tymczasem w tabeli XVI stężenie w stopniu G3 jest najwyższe a w stopniu G1 najniższe, co poparte jest także Ryciną 7 A – wymaga to wyjaśnienia.
5. Na stronie 83. Autorka podkreśla, że najwyższe stężenie IL-6 oraz największy rozrzut wyników odnotowała w surowicy pacjentów z rakiem jelita grubego. Uznaje to jako ciekawostkę. Największy rozrzut wyników w tej grupie pacjentów jest zrozumiały, ponieważ pomimo istnienia różnych klasyfikacji raka, przebieg tej choroby u każdego pacjenta jest różny.
6. Doktorantka w swojej pracy stwierdziła, że po leczeniu chirurgicznym stężenie CRP u chorych z rakiem było wyższe niż przed operacją i stwierdziła, że może to wynikać z ogólnoustrojowej reakcji na zabieg chirurgiczny. Jest to słuszne stwierdzenie, dlatego należałoby ściśle określić w jakim czasie po zabiegu dokonywano oznaczenia CRP (u poszczególnych chorych bądź w całej grupie). Oznaczanie CRP w krótkim czasie po zabiegu operacyjnym służy innym celom niż wyznaczone przez Doktorantkę.
7. W rozdziale „Wnioski” Autorka podsumowuje uzyskane wyniki. Ponieważ uzyskała dużo wyników, również Wnioski są dość rozbudowane. Podczas przygotowywania pracy do publikacji sugerowałbym jednak skrócenie tej części pracy. W obecnej formie przypominają one bardziej omówienie, a ponadto tak rozbudowana treść niekorzystnie wpływa na ich czytelność. Trudno zgodzić się z wnioskiem nr 4 (który proponuję w ogóle usunąć), że „wszystkie badane wskaźniki biochemiczne mogą być alternatywą dla badań endoskopowych we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego”. Dotąd nie znaleziono bowiem żadnego takiego wskaźnika i żadne badanie laboratoryjne nie zastąpi kolonoskopii w szczegółowej ocenie stopnia zaawansowania choroby oraz dokładnej ocenie rozległości zmian. Przekłada się to na możliwość zastosowania odpowiedniego leczenia, a także możliwości pobrania wycinków do badania histopatologicznego oraz przede wszystkim prowadzenie nadzoru onkologicznego.

Cała rozprawa doktorska została napisana zasadniczo starannie, a wiele elementów opracowania świadczy o dojrzałości naukowej a także o zaawansowanej wiedzy Doktorantki. Wprawdzie Doktorantka nie ustrzegła się pewnej liczby błędów literowych, niezręczności stylistycznych, a niekiedy także pominięć wyrazów czy też niewłaściwych ich końcówek. Są

to jednak błędy techniczne, które łatwo poprawić przed publikacją. Rozprawa została prawidłowo zaplanowana i zrealizowana, stanowi oryginalną pozycję w zakresie poznawczym. W opinii Recenzenta praca ma wysoką wartość naukową. Spełnia ona ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytułach naukowych (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.).

Dlatego mam zaszczyt wnieść do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej mgr Natalii Katarzyny Grzegorzak pt. „Stężenie rozpuszczalnej formy liganda indukującego proliferację (APRIL) oraz wybranych wskaźników biochemicznych w surowicy krwi pacjentów z rakiem, gruczolakiem lub wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego” i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

Dr hab.n.med. Marek Waluga

Katedra i Klinika Gastroenterologii

Prodziekan Wydziału Lekarskiego w Katowicach

Śląski Uniwersytet Medyczny

PRODZIEKAN

Wydziału Lekarskiego w Katowicach
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

dr hab. n. med. Marek Waluga

