

Dr hab. n. med. Wojciech Latos

Bytom, 31.08.2023r

Specjalistyczna Praktyka Lekarska

Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych,

Angiologii, Medycyny Fizykalnej

Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

ul. Batorego 15, 41-902 Bytom

tel/fax: +48 32 7861630

**Recenzja pracy doktorskiej na stopień doktora
lekarza GRZEGORZA PASTERNAKA**

pt.

**„RYZIKO NAWROTU CHOROBY CROHNA PO ZABIEGACH RESEKCYJNYCH
A POZIOMY WYBRANYCH METALOPROTEINAZ W ŚCIANIE PRZEWODU
POKARMOWEGO”**

wykonanej pod kierunkiem promotora:

dr hab. n. med. Davida Aebishera, Prof. UR

Omówienie tematu

Do grupy nieswoistych zapaleń jelit (NZJ) zalicza się wrzodziejące zapalenie jelita grubego (ang. ulcerative colitis, łac. colitis ulcerosa – CU), chorobę Leśniowskiego Crohna (Crohn disease – CD) i zapalenie niezdefiniowane (indetermined colitis – IC). Dane epidemiologiczne wskazują, że zachorowalność na NZJ rośnie.

Statystyki pokazują, iż w Polsce cierpi na NZJ od 30 do 50 tys. pacjentów, ale nie wszyscy chorują poważnie i nie wszyscy wymagają specjalistycznych terapii. Nieswoiste zapalenia jelit mogą bowiem przebiegać w pełnym spektrum, od postaci łagodnych do ciężkich i piorunujących. Typowe dla tych chorób są remisje oraz nawroty, które nazywamy kolejnymi rzutami.

Choroba Leśniowskiego-Crohna (CD) dotyczy ponad 6 tys. Polaków (z danych z polskiego rejestru choroby Crohna; dane z 95 ośrodków z września 2018 r.). Uważa się jednak, że liczba chorych jest co najmniej dwukrotnie większa.

Etiopatogeneza NZJ nie jest do końca wyjaśniona. Obecnie przyjmuje się, że w NZJ dochodzi do zaburzeń immunologicznych ujawniających się pod wpływem czynników środowiskowych u osób predysponowanych genetycznie. Wśród czynników środowiskowych wymienia się między innymi: "zachodnią" dietę, z wysoce przetworzonych produktów, wpływ substancji chemicznych zawartych w żywności, wzrost obecności czynników zanieczyszczenia środowiska, używki oraz przewlekły stres.

Częste, przewlekłe biegunki sprawiają, że chorzy muszą skorzystać z toalety nawet 20 razy w ciągu dnia. W Polsce na nieswoiste zapalenia jelit cierpi ok. 50 tys. osób, co czwarta z nich jest niepełnoletnia. Do tej pory, mimo wielu badań, nieswoiste choroby zapalne jelit nie mają ustalonej przyczyny, a co za tym idzie, nie ma sposobu na ich skuteczne wyleczenie.

Leczenie chorych na NZJ nie jest proste, niejednokrotnie opiera się standardom, jest w dużym stopniu i z konieczności spersonalizowane. Jednocześnie postęp współczesnej medycyny wymusza weryfikację obowiązujących standardów.

Charakterystyczne nawroty i nagłe zaostrzenia wykluczają pacjenta z normalnego funkcjonowania. Są pacjenci, którzy mają tylko jedno zaostrzenie choroby w życiu, ale są i tacy, którzy z ciężkim przebiegiem swojej dolegliwości borykają się latami. W momencie zdiagnozowania choroby, lekarz nie jest w stanie przewidzieć jej przebiegu ani tego, czy pacjent będzie odpowiadał na daną terapię i jakie leczenie będzie dla niego najbardziej optymalne.

Niestety, terapia nieswoistych zapaleń jelit jest trudna i skomplikowana, ponieważ część pacjentów nie reaguje na leczenie (dane pokazują, że problem ten dotyczy 2/3 pacjentów z NZJ), a leczenie standardowe wiąże się dla nich z wieloma skutkami ubocznymi. To złe rokowanie szczególnie dla młodych osób, które muszą liczyć się z koniecznością leczenia jeszcze przez wiele lat.

W sytuacji, gdy u chorego zastosowano różne opcje terapii, a mimo to obserwuje się brak pozytywnej odpowiedzi na leczenie, konieczna może się okazać interwencja chirurgiczna, wycięcie fragmentu jelita grubego (kolektomia) lub/ i niejednokrotnie wyłonienie sztucznego

Choroba Leśniowskiego-Crohna (CD) jest pełnościennym, w 60% ziarniniakowym zapaleniem mogącym dotyczyć przewodu pokarmowego w każdym jego odcinku – od jamy ustnej do odbytu, najczęściej lokalizującym się w końcowym odcinku jelita krętego, w zastawce krętniczo kątniczej i kątnicy.

Jak dotąd nie ma leków, które mogłyby wyleczyć chorych z CD. Celem terapii jest wywoływanie remisji, a następnie utrzymywanie remisji. W terapii CD najczęściej stosowane są leki działające na układ odpornościowy: pochodne kwasu 5-aminosalicylowego, steroidy, analogi puryn, metotreksat i/lub leki biologiczne (blokujące reakcje zapalne).

W części przypadków konieczne jest również leczenie operacyjne. Operacji na jakimś etapie choroby wymaga około 70 proc. pacjentów. Najczęściej chorzy poddawani są zabiegom chirurgicznym z powodu: ropni, przetok, zwężeń i częściowej niedrożności jelit lub podejrzenia raka.

Wstępne leczenie prawie zawsze sprowadza się do stosowania leków. W bardziej skomplikowanych oraz zaawansowanych przypadkach wskazana może być operacja. Zabieg w trybie pilnym może być konieczny, gdy wystąpi perforacja jelita, niedrożność jelita lub masywne krwawienie. Inne mniej naglące wskazania do operacji to ropnie, przetoki, poważne schorzenia odbytnicy oraz brak reakcji na leczenie farmakologiczne.

Nie wszyscy pacjenci z tymi oraz innymi komplikacjami wymagają operacji. Decyzja o niej powinna zapaść po konsultacji z gastroenterologiem i chirurgiem. Mimo, że leczenie farmakologiczne jest preferowane na początku leczenia, trzeba sobie zdawać sprawę, że leczenie chirurgiczne może być konieczne nawet u ¼ pacjentów z CD. Wielu pacjentów cierpi niepotrzebnie w wyniku przeświadczenia, że operacja w przypadku CD jest niebezpieczna i prowadzi do komplikacji. Zabieg nie wyleczy choroby, ale część pacjentów nie wymaga już nigdy kolejnych operacji. Operacja często zapewnia długoterminowe ustąpienie objawów, ogranicza ilość lub eliminuje konieczność ciągłego przyjmowania leków. Najlepiej, gdy leczeniem chirurgicznym kieruje lekarz doświadczony w leczeniu choroby Leśniowskiego – Crohna.

Metaloproteinazy (MMP) odgrywają istotną rolę w procesach zapalnych oraz w progresji nowotworu, poprzez pobudzanie wzrostu komórek raka, migrację, inwazję, tworzenie

przerzutów i nowych naczyń krwionośnych. Podstawową funkcją metaloproteinaz jest udział w fizjologicznych i patologicznych procesach przebudowy składników macierzy pozakomórkowej i ich degradowanie. Wydzielanie i aktywność metaloproteinaz są zwiększone prawie we wszystkich typach nowotworów u ludzi i korelują ze stopniem zaawansowania, większą inwazyjnością, zdolnością do przerzutów, a także z krótszym okresem przeżycia.

Ocena pracy doktorskiej

Celem pracy Doktoranta było zbadanie metaloproteinaz tkankowych jako markerów nawrotu choroby Leśniowskiego-Crohna w biopsatach jelit u chorych operowanych z preparatów pooperacyjnych oraz pozyskiwanych metodą kolonoskopową. Grupy eksperymentalne obejmowały 30 pacjentów w wieku od 23 do 70 lat, ze średnią wieku 40,4 lat. Zebrane tkanki zamrożono, a następnie rozdrobnione tkanki homogenizowano buforem Ripa Lysis na lodzie. Supernatant otoczono i cztery metaloproteinazy - MMP 3, MMP 7, MMP 8 i MMP 9 - analizowano za pomocą testu immunoenzymatycznego z użyciem zestawów SEA101HU, SEA102Hu, SEA103Hu i SEA553Hu (Cloud-Clone Corp., Kata, TX, USA). Wszystkie analizy chemiczne przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Zawartość metaloproteinazy wyrażono jako średnią $\pm$ odchylenie standardowe.

W wyniku oznaczeń Doktorant potwierdził, że MMP 3 i MMP 8 istotnie wpływały na możliwość nawrotu choroby Leśniowskiego-Crohna. Natomiast MMP7 i MMP 9 nie wykazały wpływu na nawrót choroby Leśniowskiego-Crohna.

Badania lek. Grzegorza Pasternaka wykazały, że oznaczenie stężeń metaloproteinaz pacjentów mogą przyczynić się do dokładnej analizy następstw związanych z obecnością czynników wywołujących chorobę.

Zaprezentowana rozprawa doktorska została przedstawiona na 76 stronach, liczy 157 cytacji, 8 rozdziałów, obejmujących wykaz skrótów, spis treści, rozbudowany wstęp, charakterystykę metaloproteinaz i ich znaczenie w chorobie Leśniowskiego-Crohna, cel pracy, materiał i metody, wyniki oraz dyskusję. Ponad to: streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel, spis rycin, decyzję komisji bioetycznej uniwersytetu rzeszowskiego oraz dorobek naukowy.

Doktorant na podstawie przeprowadzonych eksperymentów wyciągnął następujące wnioski:

1. Metaloproteinazy: Mmp-1, MMP-3, MMP-7, MMP-8 i MMP-9 są biomarkerami choroby Leśniowskiego-Crohna, a ich poziomy są pomocne w ocenie pacjentów predestynowanych do zabiegu operacyjnego, a także w określeniu stopnia agresywności, nasilenia choroby; markerów predykcyjnych (pozwalających na ukierunkowanie terapii tj. farmakoterapii czy leczenia chirurgicznego).
2. Metaloproteinazy charakteryzują się zwiększoną aktywnością nie na początku trwającego stanu zapalnego. Ich obecność i zwiększona wartość informują o powstającym i toczącym się stanie zapalnym. Dlatego uzyskane wyniki będą przydatne w przypadku podejrzenia choroby Leśniowskiego-Crohna.
3. Metaloproteinazy, dzięki złożonym mechanizmom, które obejmują indukcję wielu szlaków sygnalizacyjnych są bardzo ważne na szlaku od jakiegokolwiek zmiany przedrakowej lub polipa do stanu zaawansowanego. Większość poziomu metaloproteinaz jest zwiększona w zapaleniu jelita grubego. Jednak z badań Doktoranta wynika, że to metaloproteinaza 3 i metaloproteinaza 8 miały istotny wpływ na możliwość nawrotu choroby Leśniowskiego-Crohna, dlatego obniżenie poziomu tych metaloproteinaz może skutecznie zapobiegać rozwojowi choroby.
4. Na podstawie badań klinicznych stan pacjentów można byłoby w pewnym stopniu ustabilizować poprzez zahamowanie poziomu MMP. Dlatego badanie poziomu wybranych metaloproteinaz można wykorzystać do przewidywania stanu i rozwoju chorób zapalnych.

Całość pracy doktorskiej **lek med. Grzegorza Pasternaka** oceniam bardzo wysoko.

Doktorant przedstawił ciekawe wyniki badań w oparciu o dobrze dobrany model badania. Autor pracy dowiódł tym samym, że potrafi przeprowadzić wzorowo eksperyment naukowy a następnie opracować uzyskane wyniki badań i w sposób przejrzysty przedstawić je czytelnikowi.

Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę, iż nie mam istotnych i zwyczajowych uwag co do przedstawionej mi do recenzji pracy. Nie znalazłem istotnych błędów edytorskich bądź stylistycznych, poza dyskusyjnymi przecież sformułowaniami mogącymi być subiektywnie przeze mnie uznanymi za niefortunne. Wysoko oceniam przedstawioną mi dysertację, przede wszystkim w aspekcie trafnego wyboru tematu, jasnego i klarownego przedstawienia wyników

badan merytorycznych oraz rozbudowanej dyskusji, poprawnego doboru bibliografii i jej cytowań.

Powyższe uzasadnia wysoką ocenę, którą wystawiam Doktorantowi i Promotorowi pracy dr hab. n med. Davidowi Aebisherowi, Profesorowi UR.

Warta podkreślenia jest oryginalność tematyki i wkładu naukowego Doktoranta, która polega na:

1. Wskazaniu metaloproteinaz, jako możliwych markerów oceny rokowania pooperacyjnego u chorych poddanych zabiegom chirurgicznym w przebiegu choroby Leśniowskiego-Crohna.
2. Prawidłowym zaplanowaniu i przeprowadzeniu badania, zarówno na etapie doboru chorych, pobierania materiału do badań, oceny poziomu wybranych metaloproteinaz (MMP: -3, -7, -8, 9).
3. Prawidłowa konstrukcja modelu statystycznego.
4. Adekwatna korelacja poziomów otrzymanych wyników, w aspekcie prognozy możliwości niepowodzenia leczenia i nawrotu choroby w przypadku MMP-3 oraz MMP-8.
5. Wskazanie możliwości użycia, poza standardową ścieżką diagnostyczną, badania poziomu metaloproteinaz w resekowanych i zdrowych tkankach, jako istotnego rokowniczego biomarkera nawrotowości choroby Leśniowskiego-Crohna.
6. Pośrednim sukcesem pracy doktoranta jest uzupełnienie dotychczasowej wiedzy dającej podstawy naukowe, dla zaplanowania i wdrożenia prac nad potencjalnym zastosowaniem inhibitorów metaloproteinaz w leczeniu CD w przyszłości.

Ponadto pracę cechują:

1. Poprawność w sformułowaniu założeń badawczych, tez, celu pracy i wniosków,
2. Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna. Doktorant posługuje się poprawnym słownictwem, charakterystycznym dla prac naukowych. ,
3. Trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętności ich zastosowania.
4. Doktorant przedstawia dokładny opis całej procedury badawczej oraz oznaczeń z poszczególnych etapów eksperymentu.
5. Przedstawiona charakterystyka wymienionych metod nie budzi zastrzeżeń,
6. Doskonała oprawa graficzna pracy, jasny i przejrzysty, pomimo skomplikowanego tematu, sposób przedstawienia wyników.

Wniosek końcowy

Ogólny kształt i heurystyka pracy jest poprawna, analizy prowadzone są rzetelnie, a wnioski ciekawe. Rozprawa świadczy o odpowiedniej wiedzy Doktoranta w zakresie projektowania badań i umiejętności analizy osiągniętych wyników.

Rozprawa jest poprawnie zredagowana. Analizując strukturę pracy i opisy, należy stwierdzić, że Doktorant orientuje się w tematyce rozprawy, i poprawnie opanował pisanie tekstów prac naukowych.

Szczegółowa i wnikliwa ocena przedstawionej mi Pracy Doktorskiej **lek. med. Grzegorza Pasternaka** pt.: „Ryzyko nawrotu choroby Crohna po zabiegach resekcyjnych a poziomy wybranych metaloproteinaz w ścianie przewodu pokarmowego” oraz dorobku naukowego upoważnia mnie do wyrażenia wysoce pozytywnej opinii.

Dojrzałość naukowa Doktoranta poparta jest zdolnością do analitycznego myślenia i trafnego wyciągania wniosków. Rozprawa doktorska udowadnia, że **lek. med. Grzegorz Pasternak** jest dojrzałym badaczem naukowym, w pełni zdolnym do realizowania samodzielnych i nowatorskich koncepcji naukowych zasługujących na stopień naukowy doktora nauk medycznych w Dyscyplinie Nauk Medycznych i Nauk Zdrowiu.

Na podstawie wymienionych przeze mnie wysokich aspektów naukowych i poznawczych powyższej dysertacji uważam, że rozprawa doktorska **lek. med. Grzegorza Pasternaka** 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 późniejszymi zmianami).

Rozprawa została sumiennie przygotowana, a otrzymane wyniki są ważne z punktu widzenia przyszłych badań podstawowych i klinicznych. Doktorant rozwiązał rozważany w pracy problem naukowy, stosując przy tym poprawny warsztat badawczy.

W związku z tym wnoszę do Rady Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o kontynuowanie postępowania o nadanie **lek. med. Grzegorzowi Pasternakowi** stopnia doktora nauk medycznych w Dziedzinie Nauk Medycznych i Nauk Zdrowiu.

Jednocześnie składam wniosek o jej wyróżnienie, z uwagi na wysoką wartość naukową, poziom merytoryczny, oryginalność zastosowanych metod badawczych, publikacje w renomowanych periodykach oraz możliwość przyszłego wdrożenia do praktyki klinicznej a przez to istotny wkład uzyskanych wyników w rozwój nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Do wartości naukowych i poznawczych powyższej dysertacji, zasługujących na wyróżnienie, zaliczam:

- 1/ Trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność
- 2/ Duże znaczenie uzyskanych rezultatów dla nauki i praktyki, w tym możliwości ich bezpośredniego przełożenia na codzienną praktykę kliniczną i bezpośrednie zastosowanie praktyczne, zwłaszcza w aspekcie chorób cywilizacyjnych,
- 3/ Nowatorski i aktualny temat.
- 4/ Perspektywiczny i rozwojowy charakter pracy i wniosków z niej płynących.

Bytom, 31.08.2023r

Dr hab. n. med. Wojciech Latos
Specjalista Chorób Wewnętrznych
Gastroenterolog
7737733

Wojciech Latos

Wojciech Latos