

Prof. dr hab. med. Urszula Demkow

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieków Rozwojowych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja pracy doktorskiej

Mgr Krystyny Słowińskiej-Solnicy pt: "Ocena możliwości wykorzystania oznaczeń mediatorów stanu zapalnego w diagnostyce choroby Leśniowskiego-Crohna."

Podstawą oceny był zbiór artykułów stanowiących rozprawę doktorską, złożony z 2 publikacji. Wszystkie publikacje są pracami o autorstwie zespołowym. W obu pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Prace opublikowane są w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, czasopismo posiada impact factor (3,707). Łączny IF cyklu prac wynosi 7,414.

Praca doktorska dotyczy bardzo aktualnych i ważnych zjawisk – szybkiej diagnostyki nieswoistej choroby zapalnej jelit (Choroby Leśniowskiego Crohna) oraz zależności pomiędzy stężeniem mediatorów zapalenia a aktywnością choroby. Choroba Leśniowskiego-Crohna (CD) należy do nieswoistych zapalnych chorób jelit o niewyjaśnionej etiologii. Rozpoznanie choroby opiera się na wywiadzie, badaniu fizykalnym, badaniach obrazowych oraz, przede wszystkim, na wynikach badania histopatologicznego. Dodatkowo bierze się pod uwagę wyniki badań laboratoryjnych, w tym białek ostrej fazy oraz autoprzeciwciał i kalprotektyny w kale. Etiopatogeneza CD jest wieloczynnikowa – zależna od czynników genetycznych, zakażeń, stresów oraz lokalnych i systemowych zaburzeń odpowiedzi immunologicznej na nieznane czynniki. W rozwoju nieswoistych zapalnych chorób jelit dochodzi do zmiany równowagi pomiędzy różnymi subpopulacjami limfocytów, a główną rolę w patogenezie choroby przypisuje się mediatorom zapalenia produkowanym przez limfocyty Th1 i Th17 (głównie IL-6, IL-17, IL-12 i IL-23 oraz INF- γ). W pracy doktorantka wzięła pod uwagę wyżej wymienione cytokiny, biorące udział w zainicjowaniu i podtrzymaniu stanu zapalnego u pacjentów z CD oraz cytokiny działające przeciwzapalnie (IL-10 i IL-19). CRP oraz cytokiny pro i antyzapalne i ich kombinacje zostały zaproponowane jako potencjalne markery służące do rozpoznania i oceny aktywności choroby. Wybrany temat ma istotne implikacje merytoryczne i praktyczne.

Badania prowadzono w Zakładzie Biochemii Klinicznej, Genetyki i Nutrigenomiki Katedry Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Cele pracy są jasne. O ile kalprotektyna w kale oraz CRP są powszechnie stosowanymi markerami aktywności stanu zapalnego, o tyle badane cytokiny, pomimo znanego udziału w patogenezie choroby, nie zostały dotąd zaakceptowane jako przydatne markery diagnostyczne.

W pierwszej publikacji włączonej do cyklu doktorantka oceniła stężenia wybranych markerów zapalenia w surowicy. Zbadano 49 chorych na CD oraz 31 zdrowych ochotników w odpowiednim wieku, wszystkie włączone do badania osoby były dorosłe. Oznaczenia przeprowadzono metodami immunoenzymatycznymi. Zarówno CRP jak i IL-6, IL-17A i IL-23 były znacząco podwyższone u chorych w porównaniu do grupy kontrolnej. Kombinacje różnych cytokin nie poprawiły przydatności diagnostycznej testów.

Kolejna publikacja o charakterze oryginalnym, na tej samej grupie badanych, miała na celu porównanie stężeń badanych markerów u chorych z aktywną i nieaktywną postacią choroby. Do grupy badanej włączono 33 chorych na CD z aktywną postacią choroby oraz 16 chorych z postacią nieaktywną. Do grupy kontrolnej włączono 31 zdrowych ochotników. Aktywność procesu zapalnego oceniono wg CDAI. Zaobserwowano znamienne wyższe poziomy badanych cytokin prozapalnych oraz ich kombinacji u chorych z aktywną postacią choroby w porównaniu do grupy chorych, u których choroba nie była aktywna. Stężenia CRP, IFN- γ , IL-6, IL-12, IL-17A, IL-19 i IL-23 w surowicy były znamienne wyższe u chorych z CD niż w grupie kontrolnej, a stężenia CRP, IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-12 i IL-19 – znamienne wyższe u pacjentów z aktywną niż nieaktywną postacią choroby. Stężenia IFN- γ i IL-12 korelowały z wartościami CDAI. Najwyższą wartość diagnostyczną doktorantka przypisała IL-23. W rozpoznawaniu aktywnej postaci CD obiecującymi markerami okazały się CRP oraz iloczyny: [CRP]x[IL-10] i [CRP]x[IL-19], a w jej wykluczeniu – IFN- γ oraz iloczyny: [CRP]x[IFN- γ], [CRP]x[IL-12] i [IFN- γ]x[IL-19]. Markery i ich kombinacje lepiej różnicowały chorych z aktywną i nieaktywną postacią choroby niż odróżniały chorych od zdrowych. Oznaczenia IL-6, IL-10, IL-12 i IL-17A jako pojedynczych markerów nie okazały się przydatne w rozpoznawaniu CD, ani w ocenie jej aktywności. CRP nie okazało się dobrym markerem zapalnym w rozpoznawaniu CD, natomiast IL-23, cytokina o dużym znaczeniu dla patogenezy choroby, będąca intensywnie badanym punktem uchwytu leczenia biologicznego w NChZJ, miała najlepszą charakterystykę diagnostyczną. Przydatność IL-23 jako markera aktywności choroby wymaga dalszych badań. Doktorantka stwierdza, że mała liczebność badanych grup nie pozwala na zarekomendowanie badanych markerów w praktyce klinicznej, jednakże sugeruje, że jest to obiecujący kierunek badań. Autorka podkreśla, że spośród badanych markerów obecnie jedynie stężenia CRP i IL-6 w surowicy są rutynowo oznaczane w laboratoriach diagnostycznych. Przedstawiona w niniejszej pracy charakterystyka wybranych markerów/mediatorów stanu zapalnego wymaga weryfikacji

poprzez zestawienie jej z danymi klinicznymi, wynikami badań histopatologicznych i wynikami badań obrazowych u chorych na CD.

Pracę kończy 6 wniosków. Wnioski 1 i 2 są podsumowaniem wyników pracy. W pozostałych wnioskach Doktorantka sugeruje, że warto poszukiwać przydatnych klinicznie markerów i ich kombinacji jako nowych markerów diagnostycznych lub służących do monitorowania aktywności choroby. Autorka wskazuje na potencjalną przydatność diagnostyczną IL-23 i IL-19, a w ocenie aktywności choroby – CRP i IFN- γ oraz iloczyny stężeń różnych kombinacji tych markerów. Słusznie zauważa, że niezbędna będzie standaryzacja i automatyzacja oznaczeń IL-19, IL-23 i IFN- γ .

W podsumowaniu recenzji chciałabym podkreślić znaczenie przedstawianych w pracy zagadnień. Nieswoiste zapalenia jelit i ich konsekwencje są bardzo dużym problemem medycznych i społecznym, będą przyczyną bólu, cierpienia, utrudnień w codziennym funkcjonowaniu, niepełnosprawności. Alarmujące statystyki pokazują na narastanie problemu i wzrost liczby zachorowań, także u dzieci. Z drugiej jednak strony dostępność nowych terapii opartych na antagonistach cytokin, czyni diagnostykę cytokinową atrakcyjnym narzędziem diagnostycznym. W pracy zabrakło mi odniesień do innych chorób o charakterze autozapalnym, które wymają różnicowania z CD – szczególnie celiakii oraz colitis ulcerosa. Wydaje się, że w przyszłych badaniach należałoby sprawdzić czy badane markery w podobnych kombinacjach są swoiste dla CD, czy też na przykład inne choroby zapalne jelit, skóry czy też inne choroby ziarniniakowe charakteryzują się podobnym profilem cytokin. W takiej sytuacji swoistość proponowanych testów byłaby bardzo niska. Z drobnych uwag celowe wydaje się zastąpienie sformułowania „stężenie większe”, stwierdzeniem „stężenie wyższe”.

W posumowaniu oceny pracy mgr Krystyny Słowińskiej - Solnicy pragnę podkreślić, iż praca stanowi oryginalny dorobek naukowy Doktorantki. Jest dowodem jego pracowitości, umiejętności planowania i realizowania badań naukowych. Świadczy o zdolności do samodzielnego rozwiązywania postawionych sobie celów badawczych, o umiejętności krytycznej interpretacji wyników badań na tle właściwie wykorzystanego piśmiennictwa naukowego oraz logicznego wnioskowania. Przedstawiona do oceny praca doktorska niewątpliwie zachęca do stawiania dalszych pytań dotyczących opisywanego zagadnienia a wyniki pracy warte są szerokiego rozpowszechnienia w środowisku lekarskim.

Stwierdzam, że praca mgr Krystyny Słowińskiej-Solnicy pt: "Ocena możliwości wykorzystania oznaczeń mediatorów stanu zapalnego w diagnostyce choroby Leśniowskiego-Crohna." odpowiada kryteriom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk medycznych.

Przedstawiam zatem Radzie Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie wniosek o dopuszczenie mgr Krystyny Słowińskiej-Solnicy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab n. med. Urszula Demkow

