



KLINIKA GASTROENTEROLOGII

Centralny Szpital Kliniczny

92-213 Łódź, ul. Pomorska 251

dr hab. med. prof. nadzw. Anita Gąsiorowska

Łódź, 15.03.2023

Klinika Gastroenterologii

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Olgi Kaczmarczyk

pt.: „Związek pomiędzy krótkołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi a wybranymi mediatorami stanu zapalnego oraz integralnością nabłonka błony śluzowej jelita u chorych na nieswoiste choroby zapalne jelit”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. med. Olgi Kaczmarczyk, powstała pod opieką Promotora prof. dr hab. Małgorzaty Zwolińskiej-Wcisło oraz Promotora pomocniczego dr hab. Michała Woźniakiewicza, bardzo dobrze wpisuje się w tematykę badawczą Kliniki Gastroenterologii i Hepatologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Celem badań zaplanowanych w ramach rozprawy było potwierdzenie hipotezy o związku między zmianami stężeń krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych a wskaźnikami stanu zapalnego i przebiegiem klinicznym nieswoistych chorób zapalnych jelit.

W skład rozprawy wchodzi 4 spójne tematycznie artykuły opublikowane w międzynarodowych czasopismach, w latach 2021-2022. Trzy artykuły zostały opublikowane w czasopismach posiadających istotnie wysoki Impact Factor: 4,964-6,706, łącznie: 16,888, natomiast jeden artykuł w czasopiśmie, którego wydawcą jest Polska Akademia Nauk Uniwersytet Jagielloński w Krakowie posiadający 70 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszą autorką.

We wstępie Autorka omawia jeszcze nie do końca poznaną patogenezę nieswoistych chorób zapalnych jelit oraz zmiany profilu cytokinowego i mechanizmy immunologiczne z nimi związane. Wśród czynników środowiskowych podkreśla rolę diety ubogobłonnikowej, która niekorzystnie wpływając na skład i różnorodność mikrobioty jelitowej determinuje ilość produkowanych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Autorka podkreśla znaczenie integralności i funkcjonalności prawidłowej bariery jelitowej dla zachowania homeostazy organizmu. Omawia wyniki uzyskane z badań doświadczalnych analizujące wpływ krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych na białka połączeń ścisłych a także syntezę cytokin pro- i przeciwzapalnych. Zainteresowanie Autorki wzbudziły również prace analizujące zaburzenia mikrobioty jelitowej u pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit. Autorka zaznacza, że nadal brak jest jednoznacznych wyników dotyczących stężeń poszczególnych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w stolcu u chorych z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit.

Cel rozprawy został jasno sformułowany – jest nim ocena ilościowych i jakościowych zmian stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w stolcu oraz ustalenie związku pomiędzy ich profilem a wybranymi wskaźnikami stanu zapalnego oraz cytokinami u pacjentów z aktywną i nieaktywną nieswoistą chorobą zapalną jelit. Ponadto celem była ocena ekspresji mRNA wybranych parametrów stanu zapalnego, enzymów oraz białek połączeń ścisłych i strefy zamykającej w biopatach błony śluzowej jelita u pacjentów z NChZJ.

W rozdziale Materiał i metody Autorka opisuje grupy badane – pacjentów z rozpoznaną zgodnie z wytycznymi ECCO - chorobą Leśniowskiego-Crohna lub wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, pozostających pod opieką Poradni i/lub Kliniki Gastroenterologii i Hepatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Zebrano podstawowe dane demograficzne oraz przeprowadzono autorski kwestionariusz żywieniowy stworzony we współpracy z dietetykiem klinicznym. Od chorych pobrano również krew żylną do oznaczeń hematologicznych oraz biochemicznych a także do oznaczenia poziomu cytokin i zonuliny. Wykonano także kolonoskopię, w której oceniano nasilenie i zasięg zmian zapalnych w błonie śluzowej jelita grubego i dystalnego odcinka jelita krętego oraz pobierano wycinki w celu oceny histopatologicznej oraz badania ekspresji mRNA dla wybranych parametrów. Dodatkowo w próbkach kału oceniano stężenie kalprotektyny oraz stężenia następujących kwasów organicznych: bursztynowego, octowego, mlekowego, propionowego, masłowego, izomasłowego, walerianowego i izowalerianowego. W części dotyczącej analizy statystycznej podano rodzaje testów wykorzystanych przy analizie korelacji.

Pierwszy z serii artykułów stanowi praca „*Fecal levels of lactic, succinic and short-chain fatty acids in patients with ulcerative colitis and Crohn disease: A pilot study*”, opublikowany w *Journal of Clinical Medicine* w 2021r, IF: 4.964, w którym Autorka opisała wyniki analizy jakościowej i ilościowej kwasów organicznych w kale u pacjentów z NChZJ i w grupie kontrolnej oraz korelacje ww parametrów z przyjmowanymi lekami oraz stosowaną dietą. W pracy wykazano związek pomiędzy stężeniem kwasu mlekowego w kale a ciężkością zaostrzenia NChZJ. Ponadto po raz pierwszy Autorka wykazała związek pomiędzy stosowaniem preparatów antyTNF-alfa a stężeniem kwasu izomasłowego. Dodatkowo wykazała wyższe stężenia kwasu propionowego w kale u pacjentów stosujących trimebutynę, co może wynikać z wpływu na motorykę i czas pasażu jelitowego. Co ciekawe, nie stwierdziła korelacji pomiędzy poziomem oznaczanych kwasów organicznych w kale a częstością spożycia błonnika pokarmowego.

W kolejnej pracy pt. „*Altered fecal short-chain fatty acid profile as a potential marker of disease activity in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease: a pilot study*” opublikowanej w *Polish Archives of Internal Medicine* w 2022r, IF: 5,218 Autorka przedstawiła profil KKT w kale u pacjentów z NChZJ w aktywnej i nieaktywnej fazie choroby oraz w grupie kontrolnej. Badaną grupę stanowiło 77 osób, w tym 61 z NChZJ ze zmianami zapalnymi zlokalizowanymi w jelicie grubym, oraz 16 osób stanowiących grupę kontrolną. Wykazano istotne niższe stężenia kwasu masłowego i kwasu octowego w grupie badanej. Co ciekawe, na profil KKT wpływała aktywność choroby a nie jej typ. W związku z tym Autorka sformułowała wniosek, że ocena KKT w stolcu może stać się przydatnym nieinwazyjnym parametrem służącym monitorowaniu aktywności NChZJ.

Następną pozycję stanowi praca pt.: „*Association between fecal levels of Short-Chain Fatty Acids and serum Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in patients with Inflammatory Bowel Diseases*”, opublikowana w *Folia Medica Cracoviensia* w 2022r, 70pkt wg MNiSW, w której Autorka badała związek pomiędzy profilem KKT w kale a markerami stanu zapalnego oraz stężeniami cytokin pro- i przeciwzapalnych w surowicy krwi u pacjentów z NChZJ w fazie remisji i zaostrzenia choroby. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze dane, że analiza profilu KKT, a w szczególności oznaczenie stężenia kwasu masłowego w kale może służyć do nieinwazyjnej oceny aktywności NChZJ.

Ostatnią pozycją jest praca pt. „*The importance of nutritional aspects in the assessment of inflammation and intestinal barrier in patients with inflammatory bowel disease*” opublikowana w *Nutrients* w 2022r, IF: 6,706, w której Autorka oceniała profil KKT w kale, cytokiny pro- i przeciwzapalne w surowicy krwi oraz ekspresję mRNA dla wybranych

enzymów i białek ścisłych połączeń w bioptatach z błony śluzowej jelita grubego. Podobnie jak we wcześniejszych pracach wykazano, że w aktywnej fazie choroby stwierdza się istotnie niższe stężenia wybranych KKT. Ponadto u pacjentów z aktywną fazą choroby stwierdzono zaburzenia bariery jelitowej w postaci zmniejszonej ekspresji mRNA dla białek połączeń ścisłych a zwiększoną ekspresję mRNA dla enzymów jelitowych biorących udział w regulacji odpowiedzi immunologicznej.

Na podstawie wyników własnych badań oraz przeglądu dostępnej literatury Autorka wysunęła wnioski, że ocena profilu KKT może służyć do nieinwazyjnej aktywności NChZJ. Natomiast nie wykazała natomiast różnic w profilu KKT w zależności od typu NChZJ. Potencjalnym markerem służącym do monitorowania aktywności NChZJ jest stężenie TNF-alfa. Ponadto potwierdziła u pacjentów z aktywną postacią choroby zmniejszoną ekspresję mRNA dla białek połączeń ścisłych i strefy zamykającej oraz zwiększoną ekspresję mRNA dla enzymów iNOS i PPAR-y.

W załącznikach znalazły się informacje związane ze zgodą Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego, a także oświadczenia współautorów określające wkład w powstawanie artykułów.

Podsumowanie

Przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko. Dotyczy ona niezwykle ciekawych zagadnień z zakresu nieswoistych chorób zapalnych jelit, które stanowią jeden z głównych problemów współczesnej gastroenterologii. Autorka zajęła się tematem słabo zbadanym, przeanalizowała gruntownie dostępną literaturę, sprecyzowała cele badawcze, zaplanowała i konsekwentnie przy użyciu nowoczesnych metod podjęła się ich realizacji. Wykazała się także umiejętnościami praktycznymi – współuczestniczyła w wykonywaniu oznaczenia KKT techniką elektroforezy kapilarnej z detekcją spektrofotometryczną. Zaplanowane i zrealizowane przez Doktorantkę badania podkreślają złożony mechanizm związku pomiędzy stężeniem KKT a aktywnością NChZJ z uwzględnieniem roli czynników środowiskowych i farmakoterapii. Uzyskane wyniki mogą mieć istotne odniesienie do praktyki klinicznej, bowiem wskazują na możliwość ich wykorzystania w nieinwazyjnym monitorowaniu aktywności choroby. Wysoka punktacja publikacji zarówno w zakresie wartości IF (16,888) jak i MNiSW (490) jest potwierdzeniem dobrego warsztatu badawczego oraz poprawnego wnioskowania.

Stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji praca doktorska lek.med. Olgi Kaczmarczyk spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim i zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie lek.med. Olgi Kaczmarczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponieważ rozprawa doktorska posiada wysokie walory naukowe, a także ze względu na wysoki sumaryczny Impact Factor czasopism, w których wyniki zostały opublikowane wnioskuję o jej wyróżnienie

KIEROWNIK
Kliniki Gastroenterologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Anita Gąsiorowska
dr hab. n. med. prof. nadzw. Anita Gąsiorowska