



RECENZJA

Rozprawy doktorskiej p.t.:

„Laboratory markers associated with endothelial injury in prediction of severity of acute pancreatitis in the early phase of the disease”

Autorstwa: lek. med. Pauliny Dumnickiej

Praca wykonana w Zakładzie Diagnostyki Medycznej Wydziału Farmaceutycznego oraz Zakładzie Diagnostyki Katedry Biochemii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Warszawie.

pod kierunkiem: Doc. dr hab. med. Ryszarda Drożdża

Ostre zapalenie trzustki (ozt) stanowi nadal trudny problem kliniczny. Dynamiczny rozwój metod wizualizacyjnych oraz lepsze poznanie patofizjologii tego schorzenia w sposób zasadniczy zmieniły strategię postępowania oraz wyniki leczenia w ostatnim dwudziestoleciu. Jednak ciężkie postaci ostrego zapalenia, szczególnie te przebiegające z zainfekowaną martwicą miększu trzustki, obciążone są nadal wysokim odsetkiem powikłań śmiertelnych. Dlatego wybór tematu rozprawy doktorskiej jest jak najbardziej aktualny i trafny.

Doktorantka w swojej pracy badawczej podejmuje interesujący i nadal aktualny problem poszukiwania laboratoryjnych markerów ciężkiego przebiegu ostrego zapalenia trzustki. Według aktualnej, zmodyfikowanej klasyfikacji ozt z Atlany z 2012 roku utrzymująca się niewydolność wielonarządowa, ponad 48 godzin jest kryterium rozpoznania ciężkiego ostrego zapalenia trzustki (*severe acute pancreatitis*, SAP). W tej postaci choroby śmiertelność może sięgać powyżej 50%. Rozwój niewydolności wielonarządowej uznano za główny, kliniczny wyznacznik ciężkości choroby. Powstaje on w wyniku uogólnionego stanu zapalnego i jest główną przyczyną zgonów we wczesnej fazie tego schorzenia. Dlatego kluczowe znaczenie w opiece nad pacjentami w tej grupie chorych jak

najwcześniejsza identyfikacja ciężkich postaci ozt. Pacjenci ze spodziewanym ciężkim przebiegiem ostrego zapalenia trzustki powinni być możliwie szybko objęci intensywnym nadzorem medycznym. Obecnie w praktyce klinicznej istotną rolę pełni częsta, regularna kontrola stanu pacjenta, zwłaszcza pod kątem rozwijającej się niewydolności wielonarządowej. Jednak badania wskazują, że sama ocena kliniczna nie zapewnia zadowalającej czułości diagnostycznej we wczesnym rozpoznaniu SAP. Ocenę tę mogą wspomóc badania laboratoryjne: najszerszej wykorzystuje się oznaczenia stężenia białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy, jednak największą trafność diagnostyczną test ten osiąga dopiero po 48 godzinach od wystąpienia objawów choroby. Poszukiwanie wczesnych wskaźników prognostycznych ciężkiej postaci ostrego zapalenia trzustki jest od lat przedmiotem badań naukowych. Obiecujące wyniki uzyskiwano dla innych niż CRP białek ostrej fazy takich jak: surowiczy amyloid A, pentaksyna 3, prokalcytonina czy cytokiny prozapalne, zwłaszcza interleukina-6. Wykazano również związki między ciężkością ostrego zapalenia trzustki, a stężeniami markerów aktywacji i dysfunkcji śródbłonna. Wspólnym mianownikiem dla wymienionych markerów prognostycznych ciężki postaci ozt wydaje się być uogólniony proces zapalny prowadzący do aktywacji i uszkodzenia komórek śródbłonna, co powoduje jego zwiększoną przepuszczalność oraz utratę właściwości antykoagulacyjnych. W ostatnich latach w badaniach nad zwiększoną przepuszczalnością naczyń w ostrych stanach zapalnych poddano ocenie również białka związane z angiogenezą, w tym angiopoetynę-2 oraz fms-podobną kinazę tyrozynową-1 (*fms-like tyrosine kinase 1*, Flt-1). Wysokie stężenia angiopoetyny-2 w surowicy korelowały z wystąpieniem niewydolności wielonarządowej u pacjentów z objawami sepsy, czy ostrą niewydolnością nerek u chorych hospitalizowanych w oddziałach intensywnej terapii z różnych przyczyn. Z kolei stężenia sFlt-1 w osoczu dodatnio korelowały z ciężkością stanu septycznego. Jednak badania stężenia sFlt-1 były przeprowadzone w niewielkiej grupie chorych z ostrym zapaleniem trzustki.

W oparciu o powyższe przesłanki Doktoranta zaplanowała i przeprowadziła własne badania mające na celu ocenę :

- stężeń nowych markerów dysfunkcji śródbłonna: angiopoetyny-2 i rozpuszczalnej formy fms-podobnej kinazy tyrozynowej-1 (sFlt-1) u chorych we wczesnej fazie ostrego zapalenia trzustki (w ciągu pierwszych 72 godzin od wystąpienia objawów choroby);
- związku pomiędzy stężeniami angiopoetyny-2 i sFlt-1 a rozwojem powikłań narządowych we wczesnej fazie ostrego zapalenia trzustki, w szczególności rozwojem ostrego uszkodzenia nerek;
- związku między stężeniami angiopoetyny-2 i sFlt-1 a rozwojem zaburzeń krzepnięcia we wczesnej fazie ostrego zapalenia trzustki;

- związku pomiędzy stężeniami angiopoetyny-2 i sFlt-1 a dotychczas stosowanymi laboratoryjnymi markerami ciężkości ostrego zapalenia trzustki (stężenie białka C-reaktywnego, stężenie D-dimerów), skalą BISAP oraz klinicznymi wykładnikami ciężkiego przebiegu ostrego zapalenia trzustki;
- użyteczności diagnostycznej stężeń angiopoetyny-2 i sFlt-1 w prognozowaniu ciężkości ostrego zapalenia trzustki ocenianej zgodnie ze zmodyfikowaną klasyfikacją Atlanta z 2012 roku.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa lek. med. Pauliny Dumnickiej pt. „*Laboratory markers associated with endothelial injury in prediction of severity of acute pancreatitis in the early phase of the disease*” oparta jest o monotematyczny cykl czterech prac oryginalnych opublikowanych w międzynarodowych indeksowanych czasopismach naukowych. Prezentowany cykl prac posiadała łączenie **13,189 IF** oraz 120 punktów MNiSW.

W skład cyklu włączono następujące publikacje:

1. Dumnicka P., Maduzia D., Ceranowicz P., Olszanecki R., Drożdż R., Kuśnierz-Cabala B. *The interplay between inflammation, coagulation and endothelial injury in the early phase of acute pancreatitis: clinical implications. Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18: 354. doi: 10.3390/ijms18020354 (**IF 3,257**; MNiSW 30 punktów);
2. Sporek M., Dumnicka P., Gala-Błądzińska A., Ceranowicz P., Warzecha Z., Dembiński A., Stępień E., Walocha J., Drożdż R., Kuźniewski M., Kuśnierz-Cabala B. *Angiopoietin-2 is an early indicator of acute pancreatic-renal syndrome in patients with acute pancreatitis. Mediators Inflamm.* 2016; 5780903: 1–7. doi: 10.1155/2016/5780903 (**IF 3,418**; MNiSW 30 punktów);
3. Dumnicka P., Sporek M., Mazur-Laskowska M., Ceranowicz P., Kuźniewski M., Drożdż R., Ambroży T., Olszanecki R., Kuśnierz-Cabala B. *Serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) predicts the severity of acute pancreatitis. Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17: 2038. doi: 10.3390/ijms17122038 (**IF 3,257**; MNiSW 30 punktów);
4. Dumnicka P., Kuśnierz-Cabala B., Sporek M., Mazur-Laskowska M., Gil K., Kuźniewski M., Ceranowicz P., Warzecha Z., Dembiński A., Bonior J., Drożdż R. *Serum concentrations of angiopoietin-2 and soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) are associated with coagulopathy among patients with acute pancreatitis. Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18: 735. doi: 10.3390/ijms18040753 (**IF 3,257**; MNiSW 30 punktów).

Pierwsza oceniana publikacja jest pracą przeglądową i stanowi obszerny wstęp do dysertacji doktorskiej. Przedstawia szczegółowo zagadnienia związane z lokalną oraz uogólnioną aktywacją dysfunkcji śródbłónka we wczesnej fazie ostrego zapalenia trzustki. W pracy podkreślono istotne

związki pomiędzy ostrym stanem zapalnym, a dysfunkcją śródbłónka i aktywacją układu hemostazy. Dokonano szczegółowego przeglądu doniesień oceniających wydolność diagnostyczną laboratoryjnych markerów aktywacji i uszkodzenia śródbłónka, a także badań laboratoryjnych układu hemostazy jako wskaźników prognostycznych ciężkiego przebiegu ostrego zapalenia trzustki.

Druga opublikowana praca jest pierwszym polskim doniesieniem oceniającym związek pomiędzy stężeniem angiopoetyny-2 w surowicy pacjentów we wczesnej fazie ostrego zapalenia trzustki, a ciężkością choroby. Szczególną uwagę Doktorantka poświęciła ostrej niewydolności nerek w przebiegu ozt. W grupie 65 pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki stężenie angiopoetyny-2 oznaczone po 24, 48 i 72 godzinach od początków wystąpienia objawów było istotnym czynnikiem prognostycznym w ciężkich postaciach ozt. Stężenie angiopoetyny-2 dodatnio korelowało również z innymi laboratoryjnymi wskaźnikami dysfunkcji nerek: stężeniem kreatyniny, mocznika, NGAL w surowicy, NGAL w moczu i wskaźnikiem albumina/kreatynina w moczu. Ostre uszkodzenie nerek potwierdzono u 11 chorych, zaś ostrą niewydolność nerek, wymagającą terapii nerkozastępczej u kolejnych 6 chorych. Wysokie stężenia angiopoetyny-2 były istotnie skorelowane z wystąpieniem powikłań nerkowych, niezależnie od wieku, płci i chorób współistniejących.

W kolejnej pracy Doktorantka oceniała przydatność stężenie rozpuszczalnej formy fms-podobnej kinazy tyrozynowej-1 (sFlt-1) w predykcji ciężkości ozt. Jest to jedno z nielicznych doniesień, w aktualnym piśmiennictwie, wykazujących istotny związek pomiędzy stężeniem sFlt-1, a ciężkością ozt we wczesnej fazie choroby. Najwyższe stężenia sFlt-1 odnotowano u pacjentów z ciężką postacią ozt już w pierwszych 24 godzinach. Wartość predykcyjna stężenia sFlt > 139 pg/ml w pierwszej dobie umożliwiała rozpoznanie ciężkiej postaci ozt MSAP i SAP z czułością 94% i swoistością 63%.

W ostatniej, czwartej prezentowanej pracy Doktorantka analizowała korelację surowiczych stężeń angiopoetyny-2 i sFlt-1 z aktywacją układu hemostazy, a ciężkością ostrego zapalenia trzustki. Stężenia obu markerów uszkodzenia śródbłónka (angiopoetyny-2 i sFlt-1) wykazywały dodatnią korelację z czasem protrombinowym oraz stężeniem D-dimerów. Korelacje te były niezależne od stężenia CRP. W pierwszych 24 godzinach ostrego zapalenia trzustki stężenia obu markerów śródbłonkowych oraz ocenianych parametrów układu hemostazy wykazywały użyteczność diagnostyczną w rozpoznaniu ciężkiego ozt. Najwyższą wartość uzyskano dla angiopoetyny-2 oraz stężenia D-dimerów. Natomiast stężenie sFlt-1 było najlepszym wskaźnikiem prognostycznym dla ciężkich postaci ozt.

Reasumując stwierdzam, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki własnych badań mają charakter nowatorski i potwierdzają wysoką użyteczność diagnostyczną oznaczeń markerów uszkodzenia śródbłónka (angiopoetyny-2 i sFlt-1) w surowicy w prognozowaniu rozwoju ciężkich postaci ozt już

we wczesnej fazie choroby. Dodatkowo dodatnia korelacja obu markerów ze stężeniem D-dimerów w osoczu w tym okresie stanowi niezaprzeczalny dowód, że łączne oznaczenia w/w parametrów stanowi silny i przydatny czynnik predykcyjny w postępowaniu diagnostyczno-leczniczym. Uzyskane wyniki badań oceniam bardzo wysoko w pełni zgadzając się z wnioskami końcowymi. Jedynym słabym punktem wszystkich opublikowanych prac jest relatywnie mała liczba pacjentów z ciężkim ozt. Ale wynika to z epidemiologii i naturalnej biologii tego schorzenia. W pełni zgadzam się z opinią Doktorantki, że dalsza kontynuacja badań w większej grupie chorych jest zasadna i pozwoli na obligatoryjne oznaczanie tych markerów w codziennej praktyce klinicznej.

Oceniając całość pracy należy podkreślić edytorską staranność jej wykonania oraz przejrzystość układu. Nie odbiega ona od układu „dawnych” klasycznych prac doktorskich, pomimo, że jest prezentowana w nowej formule. Czyta się ją z dużą przyjemnością. Zawarte na wstępie pracy podsumowanie prezentuję w sposób jasny główny zarys założeń oraz celów podjętych przez Doktorantkę badań klinicznych. Ułożone w sposób chronologiczny reprinty wszystkich opublikowanych prac dokumentują w sposób przekonywujący konsekwencję z jaką zostały przeprowadzone zaplanowane badania. Całość wykonanych badań i opublikowanych prac oceniam bardzo wysoko. Zostały one wykonane w oparciu o profesjonalny warsztat badawczy z dużą starannością oraz konsekwencją. Uzyskane wyniki nowatorskich badań nie tylko wzbogaciły wiedzę o patofizjologii wczesnych faz ostrego zapalenia trzustki, ale wytyczają nowe metody predykcji ciężkich postaci co ma istotne przełożenie na wdrożenie adekwatnego sposobu leczenia.

Przedstawiona mi do oceny praca p.t. „*Laboratory markers associated with endothelial injury in prediction of severity of acute pancreatitis in the early phase of the disease*” autorstwa lek.med. Pauliny Dumnickiej spełnia wszystkie warunki przewidziane stosowną ustawą dla dysertacji doktorskich. Dlatego też wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na nowatorski charakter badań oraz staranność ich wykonania wnioskuję o wyróżnienie dysertacji doktorskiej lek.med. Pauliny Dumnickiej.

Białystok, dnia 24 maja 2017 roku

KIEROWNIK
II Kliniki Chirurgii Ogólnej
i Gastroenterologicznej
Prof. dr hab. n. med. Bogusław Kędra