

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. med. Ewy Klimek „Ocena funkcji śródbłonna oraz mikrokrażenia skórniego we wczesnej fazie przewlekłego stanu zapalnego w zapalnych chorobach stawów”

W Polsce nie dysponujemy dokładnymi danymi epidemiologicznymi, ale szacunkowo na reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) choruje do 0,9% populacji ludzi dorosłych. Najczęstszą przyczyną zwiększonej śmiertelności chorych na RZS i ZZSK są choroby układu sercowo naczyniowego. Wśród chorych na RZS ryzyko śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych jest 2-3 razy większe niż w populacji ogólnej, a ryzyko zawału serca jest o 70% większe niż w populacji ogólnej.

W literaturze istnieje wiele doniesień oceniających ryzyko sercowo naczyniowe u chorych z wieloletnim przebiegiem RZS i ZZSK, natomiast zdecydowanie mniej jest prac dotyczących chorych z wczesną fazą choroby, nieleczonych dotychczas lekami modyfikującymi przebieg choroby.

Na przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską składają się wyniki z trzech prac opublikowanych w latach 2014 do 2017, których pierwszym autorem jest lekarz medycyny Ewa Klimek. Oprócz załączonych publikacji autorka zamieściła wprowadzenie, wykaz zastosowanych skrótów, określiła cele pracy, podsumowała metodologię, omówiła wyniki badań i przedstawiła wnioski.

Wstęp jest wyczerpującym przeglądem współczesnej wiedzy o zwiększonym ryzyku sercowo naczyniowym w przebiegu RZS i ZZSK, etiopatogenezie miażdżycy oraz wybranych metodach oceny funkcji śródbłonna. Autorka podkreśliła znaczenie monocytów i makrofagów w etiopatogenezie miażdżycy oraz RZS i ZZSK. Istotne było także przedstawienie możliwości oceny reaktywności dużych naczyń oraz mikrokrażenia skórniego.

Cele pracy zostały sformułowane jasno i wyczerpująco. Doktorantka postanowiła

ocenić dysfunkcję śródbłonna naczyniowego, grubość kompleksu intima-media oraz odpowiedź układu immunologicznego we wczesnej fazie przewlekłego procesu zapalnego, u chorych na RZS dotychczas nieleczonych lekami modyfikującymi przebieg choroby (LMPCh), w zależności od aktywności choroby. Ponadto oceniła funkcję mikrokrążenia skórnoego we wczesnej fazie przewlekłego procesu zapalnego u chorych na RZS i ZZSK dotychczas nieleczonych LMPCh.

W rozdziale „Materiał i metody badawcze” opisano dokładnie procedury badawcze zastosowane w trzech przedstawionych pracach. Publikacje opracowano w oparciu o wyniki projektu badawczego „Badanie markerów wczesnego uszkodzenia śródbłonna i miażdżycy u pacjentów z nawracającymi stanami zapalnymi i we wczesnej fazie przewlekłego stanu zapalnego”, realizowanego w latach 2009-2012 w Katedrze Chorób Wewnętrznych i Gerontologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Badania przedstawione w trzech pracach zostały przeprowadzone u 27-29 chorych na RZS i 47 chorych na ZZSK, którzy zgłosili się do poradni reumatologicznej. Charakteryzowali się oni krótkim czasem trwania choroby i dotychczas nie byli leczeni LMPCh. Mogli stosować w leczeniu stabilną dawkę niesteroidowych leków przeciwzapalnych lub glikokortykosteroidów. W obu grupach oceniano ogólnie uznane wskaźniki aktywności choroby (DAS28 dla chorych na RZS i BASDAI dla chorych na ZZSK). Prawidłowo dobrane zostały kryteria wykluczające z udziału w badaniu oraz grupa kontrolna.

U wszystkich ocenianych zebrano dane dotyczące towarzyszących chorób, przyjmowanych leków, palenia tytoniu, wywiadu rodzinnego w kierunku chorób sercowo-naczyniowych. Według obowiązujących standardów dokonano pomiaru ciśnienia tętniczego krwi, obliczono średnie ciśnienie tętnicze, wskaźnik masy ciała, wykonano USG tętnic szyjnych celem oceny kompleksu intima-media (IMT) oraz ocenę mikrokrążenia skórnoego metodą laserowej Dopplerowskiej przepływometrii (LDF) i pobrano krew do badań biochemicznych i cytometrii przepływowej.

Oprócz klasycznych badań biochemicznych oznaczono stężenia interleukiny 6 (IL-6), czynnika martwicy nowotworów (TNF- α), białka chemotaktyczne dla monocytów -1 (MCP-1), rozpuszczalnej formy naczyniowej cząsteczki adhezyjnej – 1 (sVCAM-1), rozpuszczalnej formy E-selektyny (sE-selektyna), czynnika von Willebranda (vWF), pentraksyny 3 (PTX3), osteoprotegeryny (OPG), asymetrycznej dimetylo-L-argininy (ADMA), symetrycznej dimetylo-L-argininy (SDMA), cystatyny C oraz homocysteiny. Ponadto przy pomocy

cytometrii przepływowej dokonano oceny subpopulacji monocytów w krwi obwodowej (monocyty klasyczne $CD14^{++}CD16^{-}$, pośrednie $CD14^{++}CD16^{+}$ i nieklasyczne $CD14^{+}CD16^{++}$) oraz oceniano aktywność monocytów na podstawie ekspresji antygenu CD45RA, β_2 -integryn oraz receptora HLA-DR. Bardzo ciekawym zagadnieniem była ocena czynności mikrokrażenia skórno dokona za pomocą laserowego przepływomierza dopplerowskiego z analizą przepływów: spoczynkowego, w reakcji biernego przekrwienia i po prowokacji termicznej. Metoda tego badania została dokładnie przedstawiona przez autorkę.

Uzyskane wyniki zostały przedstawione w sposób poprawny, są oryginalne i mogą mieć w przyszłości znaczenie praktyczne.

Dyskusja została przez Doktorantkę przeprowadzona wyczerpująco z uwzględnieniem pełnej interpretacji wyników badań własnych w odniesieniu do nowoczesnych danych z piśmiennictwa. Rozdział ten jest napisany poprawnie, dowodząc że Doktorantka jest zorientowana w omawianym temacie, doskonale zna współczesne piśmiennictwo, a także posiada wysoce krytyczny stosunek do uzyskanych wyników.

Pracę kończy sześć wniosków, mających charakter podsumowujący. Logicznie sformułowane wnioski dotyczą ogółu przeprowadzonych badań. Najistotniejsze z nich to:

- Aktywacja śródbłónka obserwowana we wczesnej fazie przewlekłego procesu zapalnego u osób z RZS dotychczas nieleczonym LMPCh związana jest ze stanem zapalnym oraz aktywnością choroby
- Dysfunkcji śródbłónka we wczesnym etapie RZS może wskazywać na zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe .
- U pacjentów z RZS stwierdzono obecność innych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego – podwyższone stężenie fibrynogenu, cystatyny C, PTX3 oraz OPG.
- Pacjentów z RZS o krótkim czasie trwania charakteryzowała zwiększona całkowita liczba monocytów i przesunięcia w zakresie subpopulacji monocytów oraz ekspresji markerów aktywacji. Aktywność choroby związana była ze zmianami w zakresie właściwości funkcjonalnych monocytów, ale nie z liczebnością poszczególnych ich subpopulacji.

- Wczesna faza przewlekłego procesu zapalnego w przebiegu RZS i ZZSK związana jest ze zmienioną funkcją mikrokrazenia skórno, która zależy od nasilenia stanu zapalnego.

Poniżej przedstawiam moje krytyczne uwagi dotyczące przedstawionej rozprawy doktorskiej:

- w zawartych oświadczeniach dotyczących wkładu merytorycznego brakuje oświadczenia współautorów: Danuty Fedak w pracy pierwszej i Grzegorza Osmendy w pracy drugiej
- prawdopodobnie z uwagi na ograniczoną liczebność badanej populacji autorka w dwóch pierwszych pracach podzieliła chorych ze względu na aktywność choroby na wysoką ($DAS28 > 5,1$) i niską $DAS28$ ($> 2,6$ do $5,1$). W trzeciej pracy jest już uwzględniony ogólnie przyjęty podział aktywności choroby na wysoką ($DAS28 > 5,1$), umiarkowaną ($DAS28 > 3,2$ i $\leq 5,1$), niską ($DAS28 > 2,6$ i $\leq 3,2$) i remisję $\leq 2,6$. Na pewno w przyszłości ciekawe byłoby porównanie uzyskanych wyników w pierwszych dwóch pracach z uwzględnieniem pełnego podziału na poszczególne aktywności choroby. Założenie że pacjenci z $DAS28 \leq 5,1$ mają niską aktywność choroby nie jest do końca prawidłowe. Szczególnie dotyczy to chorych z wartościami $DAS28 > 3,2$.
- w streszczeniu i w metodologii: niejasno sformułowane kryterium wykluczenia - „choroba nowotworowa w ciągu 5 lat od zakończenia leczenia”
- w streszczeniu str 70: dwukrotnie „asymetryczna” : asymetryczna dimetylo-L-arginina (ADMA), asymetryczna dimetylo-L-arginina (SDMA),
- w „Materiały i metodyka badawcza” str 60: stosunek AH/AO czy AO/AH? „Obliczono stopień odtworzenia przepływu, wyrażony jako stosunek obszaru okluzji (AO) do obszaru przekrwienia (AH) — AH/AO”
- w „Omówienie wyników badań” – styl : „Dodatkowo w naszym badaniu potwierdzono związek pomiędzy stężeniem lipidów a markerem aktywacji śródbłoka (vWf), a zaburzenia lipidowe pełnią główną rolę w patogenezie miażdżycy, której pierwszym etapem jest dysfunkcja śródbłoka”
- w „Omówienie wyników badań” - „Wyniki dotyczące analizy poziomu markerów aktywacji śródbłoka (ADMA, SDMA, ADMA/SDMA, sVCAM-1, MCP-1, sE-selektyny, vWf, OPG, PTX3), uzyskane z porównania dwóch grup pacjentów z RZS (z niską i wysoką aktywnością choroby, w zależności od DAS28) z grupą kontrolną mogą sugerować, że u podstaw aktywacji śródbłoka w RZS leży przede wszystkim obecność choroby, a nie udział

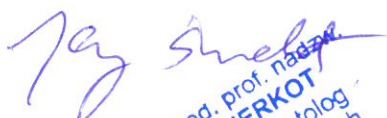
stanu zapalnego” wniosek wydaje się przedwczesny mając na względzie moje uwagi, dotyczące podział chorych na grupy.

Powyższe uwagi nie wpływają na końcową ocenę pracy. Przedstawioną mi do oceny pracę oceniam pod względem merytorycznym wysoko. Praca jest oryginalnym i nowoczesnym opracowaniem naukowym spełniającym wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Doktorantka osiągnęła zaplanowany cel badawczy, posługując się prawidłową metodyką badań w stosunku do założeń pracy. Należy podkreślić wartość praktyczną przedstawionej pracy. Bardzo istotne, że autorka dostrzega także pewne ograniczenia uzyskanych wyników związane z małą grupą chorych, różnice w wieku i płci w grupie badanej i grupie kontrolnej. W dalszych pracach dotyczących mikrokążeń bardzo interesująca byłoby także ocena ewentualnych schorzeń neurologicznych.

Reasumując, przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego – Collegium Medicum wniosek o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

dr hab. n. med. Jerzy Świerkot prof. nadzw.


dr hab. n. med. prof. nadzw.
JERZY ŚWIERKOT
Specjalista reumatolog
I chorób wewnętrznych
1477056