

Dr hab. n. med. Ewa Nowakowska-Duńska
Klinika Gastroenterologii i Hepatologii
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Ocena rozprawy doktorskiej

lek. Magdaleny Przybylskiej-Feluś

pt. *Evaluation of selected parameters of autonomic nervous system activity and gastric myoelectric activity in celiac disease patients.*

Rozprawa doktorska lek. Magdaleny Przybylskiej-Feluś pt. „*Evaluation of selected parameters of autonomic nervous system activity and gastric myoelectric activity in celiac disease patients*” jest powiązaniem tematycznie cyklem 3 prac opublikowanych na łamach recenzowanych anglojęzycznych pism *Journal of Physiology and Pharmacology*, *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* i *Folia Medica Cracoviensia*.

Do cyklu Doktorantka włączyła następujące pozycje:

Przybylska-Feluś M, Furgala A, Zwolińska-Wcisło M, Mazur M, Widera A, Thor P, Mach T. *Disturbances of autonomic nervous system activity and diminished response to stress in patients with celiac disease*. J Physiol Pharmacol 2014; 65(6): 833-41.

Przybylska-Feluś M, Zwolińska-Wcisło M, Piątek-Guziewicz A, Furgala A, Sałapa K, Mach T. *Concentrations of antiganglioside M1 antibodies, neuron-specific enolase, and interleukin 10 as potential markers of autonomic nervous system impairment in celiac disease*. Pol Arch Med Wewn 2016; 126(10): 763-771.

Przybylska-Feluś M, Furgala A, Kaszuba-Zwoińska J, Thor P, Mach T, Zwoińska-Wcisło M. *Ghrelin, pancreatic polypeptide plasma concentrations and gastric myoelectric activity in celiac disease*. Folia Med Cracov 2016; 56(2): 56-72.

Prace zostały opublikowane w latach 2014-2016, a ich łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 4.858 (sumaryczna punktacja MNiSW 60 pkt.). Doktorantka jest pierwszym autorem powyższych prac i do rozprawy dołączyła odpowiednie oświadczenia współautorów, które nie pozostawiają wątpliwości, co do Jej wiodącej roli w ich powstaniu.

Doktorantka postawiła sobie za zadanie próbę odpowiedzi na pytania dotyczące występowania zaburzeń autonomicznego układu nerwowego, aktywności mioelektrycznej żołądka oraz zmian wydzielania enterohormonów u chorych na celiakię poprzez realizację następujących celów:

1. Ocena częstości występowania zaburzeń autonomicznego układu nerwowego oraz aktywności mioelektrycznej żołądka u chorych na celiakię
2. Analiza obserwowanych zaburzeń w autonomicznym układzie nerwowym w zależności od zaawansowania zmian zapalnych w przebiegu celiakii (z uwzględnieniem zmian histopatologicznych błony śluzowej, markerów serologicznych celiakii, stanu zapalnego oraz markerów autonomicznego układu nerwowego oraz analiza obserwowanych zaburzeń w zależności od ekspozycji na gluten oraz czasu trwania choroby).
3. Ocena zaburzeń wydzielania enterohormonów w przebiegu celiakii oraz analiza zależności od zmian w obrębie autonomicznego układu nerwowego aktywności mioelektrycznej żołądka.
4. Poszukiwanie potencjalnych markerów uszkodzenia autonomicznego układu nerwowego w przebiegu celiakii.

Choroba trzewna stanowi układową chorobę o podłożu autoimmunologicznym, występującą u osób z predyspozycją genetyczną, która charakteryzuje się trwałą nietolerancją glutenu, co prowadzi do przewlekłej enteropatii z towarzyszącym zespołem złego trawienia i wchłaniania. Jest jedną z najczęstszych enteropatii, bo szacuje się, że postać bezobjawowa występuje z częstością 1/100-300, a objawowa 1/3345 w populacji osób dorosłych. Manifestacja kliniczna choroby zależy od wielu czynników, m.in. od wieku chorych. W dzieciństwie są to zazwyczaj objawy ze strony przewodu pokarmowego, jak biegunka, wzdęcia oraz utrata masy ciała i zaburzenia dojrzewania. Chorzy dorośli często prezentują nietypowe objawy mogące obejmować m.in. neuropatię czuciową, motoryczną lub autonomiczną. Doniesienia o współwystępujących objawach neurologicznych, które można stwierdzić aż u 22% chorych na celiakię pojawiły się blisko pół wieku temu, ale dopiero ostatnie lata przyniosły doniesienia na temat występowania gluteno zależnej neuropatii obwodowej oraz zaburzeń autonomicznego układu nerwowego, na których to w swoich pracach skupiła się Doktorantka.

Autonomiczny układ nerwowy (*autonomic nervous system*; ANS) jest złożoną siecią neuronalną odpowiedzialną za utrzymanie homeostazy oraz regulację czynności układu sercowo-naczyniowego, pokarmowego, moczowo-płciowego, termoregulację i wiele innych funkcji, jak sekrecja w gruczołach egzokrynnych czy reakcje źrenic.

Badania stanowiące przedmiot analiz przeprowadzone były w kilku placówkach Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, jak Katedra i Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych, Katedra Patofizjologii, Zakład Dietetyki Klinicznej przy współpracy z Zakładem Alergologii Klinicznej i Środowiskowej, Katedrą Patomorfologii, Zakładem Diagnostyki Biochemicznej i Molekularnej, I Katedrą Chirurgii Ogólnej i Kliniką Chirurgii Ogólnej, Onkologicznej i Gastroenterologicznej oraz Zakładem Bioinformatyki i Telemedycyny.

Nie chcąc powielać uzyskanych przez Doktorantkę wyników warto wspomnieć, że stwierdziła Ona na podstawie badań przeprowadzonych u 25 chorych z celiakią oraz liczącej 30 osób grupie kontrolnej, że zaburzenia równowagi układu współczulnego i przywspółczulnego z przewagą czynności układu współczulnego (20 vs 36%) można zaobserwować nawet u bezobjawowych chorych z celiakią (Przybylska-Feluś M i wsp. *Disturbances of autonomic nervous system activity and diminished response to stress in patients with celiac disease*. J Physiol Pharmacol. 2014).

Próbując znaleźć odpowiedź na pytanie o mechanizm powstawania tych zaburzeń Doktorantka oceniła stężenie przeciwciał przeciw M1 gangliozydom (anty-GM1), neuronoswoistej enolazy (NSE) oraz interleukiny-10 (IL-10) i podjęła próbę skorelowania ze zmianami stwierdzanymi w zapisie elektrogastrografii oraz w analizie zmienności rytmu serca. Markery te - stwierdzane u chorych z chorobami neurologicznymi oraz chorobami immunologicznymi z manifestacją neurologiczną - zostały oznaczone u 34 chorych z celiakią i u 34 osób grupy kontrolnej. Doktorantka wykazała, że u chorych z celiakią stwierdza się wyższe stężenie przeciwciał anty-GM1 i IL-10 w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast nie występuje różnica w stężeniu NSE. Wykazała także dodatnią korelację między stężeniem IL-10 a widmem bardzo niskiej częstotliwości w HRV, natomiast nie wykazała korelacji pomiędzy czynnością mioelektryczną żołądka a obecnością przeciwciał anty-GM1, NSE i IL-10.

Z klinicznego punktu widzenia najważniejszą i najbardziej interesującą częścią prezentowanej pracy jest próba skorelowania uzyskanych wyników z parametrami klinicznymi. Autorka postuluje, że przewlekły stan zapalny może być przyczyną zmian w obrębie autonomicznego układu nerwowego, a przeciwciała przeciwko GM1 oraz IL-10 mogą być wskaźnikami uszkodzenia układu nerwowego w przebiegu celiakii (Przybylska-Feluś M i wsp. *Concentrations of antiganglioside M1 antibodies, neuron-specific enolase, and interleukin 10 as potential markers of autonomic nervous system impairment in celiac disease*. Pol Arch Med Wewn. 2016).

Praca ta spotkała się z dużym zainteresowaniem, gdyż na łamach tego samego numeru *Polskiego Archiwum Medycyny Wewnętrznej* ukazał się artykuł redakcyjny pod znamienym tytułem *Markers of autonomic nervous system impairment in celiac disease: we know the questions to ask but we still do not have answers* autorstwa prof. Grażyny Rydzewskiej.

Analiza czynności mioelektrycznej żołądka oraz wydzielania neurohormonów jelitowych - greliny i polipeptydu trzustkowego, które pełnią kluczową rolę w regulacji motoryki przewodu pokarmowego u 25 chorych z celiakią oraz u 30 osób grupy kontrolnej pozwoliły Doktorantce na wysnucie wniosku, że występujące w przebiegu celiakii zaburzenia motoryki żołądka są najpewniej efektem spadku wydzielania greliny i wzrostu wydzielania polipeptydu trzustkowego. Zmiany te Doktorantka wiąże z występowaniem przewlekłego stanu zapalnego błony śluzowej jelit w przebiegu celiakii (Przybylska-Feluś M i wsp. *Ghrelin, pancreatic polypeptide plasma concentrations and gastric myoelectric activity in celiac disease*. Folia Med Cracov 2016).

Duża wartość poznawcza przedstawionych prac wynika z konsekwentnej realizacji precyzyjnie zaplanowanych badań.

Do oceny funkcji autonomicznego układu nerwowego Doktorantka wykorzystała nowoczesny warsztat badawczy z analizą zmienności rytmu serca (*heart rate variation*; HRV) oraz elektrogastrografię. Metoda HRV pozwala ocenić zarówno aktywność nerwu błędnego, jak i układu współczulnego przez rejestrowane w EKG odstępy RR poddane złożonej analizie na podstawie transformacji Fouriera. Uzyskane w efekcie dwie składowe widma: niskich częstotliwości (*low frequency*; LF) odzwierciedlają wpływ układu współczulnego i wysokich

częstotliwości (*hight frequency*; HF), która związana jest z oddechową zmiennością warunkowaną aktywnością nerwu błędnego. W swoich badaniach Doktorantka wykorzystała podstawowe metody pobudzenia ANS, jak test głębokiego oddychania czy rozciągania żołądka za pomocą testu wodnego. Również badania motoryki żołądka Doktorantka przeprowadziła z wykorzystaniem możliwości elektrogastrografii, a zakres oceny parametrów laboratoryjnych wskazuje na ogromne możliwości ośrodka skąd prace pochodzą.

Prezentowane przez Doktorantkę wyniki odpowiadają założonym celom, w analizie wyników wykorzystano nowoczesne metody statystyczne, dyskusja nad wynikami jest wnikliwa i wyczerpująca, a zestawienie z piśmiennictwem świadczy o dobrym teoretycznym przygotowaniu Autorki do prowadzenia badań.

Z obowiązku recenzenta w kontekście przedstawionych wyników jedynie mam kilka pytań.

Cel, który Doktorantka sobie wytyczyła, czyli analiza obserwowanych zaburzeń w autonomicznym układzie nerwowym w zależności od zaawansowania zmian zapalnych w przebiegu celiakii jest bardzo ambitny. Nie udało się dowieść, aby zaburzenia czynności autonomicznego układu nerwowego wykazywały korelację z tak podstawowymi wykładnikami stanu zapalnego, jak stężenie białka C-reaktywnego.

Czy biorąc pod uwagę wysokie stężenie przeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej w grupie badanej można oczekiwać, że prawidłowo prowadzona dieta bezglutenowa prowadząca zazwyczaj do normalizacji tego parametru (poza przypadkami celiakii odpornej na leczenie) i normalizacji obrazu histopatologicznego pozwoli na normalizację wydzielania enterohormonów jelitowych?

Czy czas od rozpoznania celiakii miał wpływ na badane parametry?

Czy można wykazać różnice w badanych parametrach w grupie osób ze świeżo rozpoznaną celiakią, pozostających na diecie bezglutenowej oraz nie utrzymujących diety, gdyż jak wiadomo ten element leczenia ma kluczowe znaczenie w utrzymywaniu się/cofaniu zmian śluzówkowych.

Czysto korektorską uwagę (zdaję sobie sprawę, że nie można już tego zmienić) jest błąd w tabeli I *Clinical characteristic of the study participants* pracy nt. stężeń neurohormonów w celiakii. Porównanie z pracą o zaburzeniach aktywności autonomicznego układu

nerwowego wskazuje, że mamy do czynienia z tą samą grupą chorych, a we wzmiarkowanej tabeli „zgubił się” w zestawieniu 1 chory z rozpoznaniem histopatologicznym Marsch I ($9 + 15 \neq 25$)

Podobnie w dostarczonym do recenzji egzemplarzu rozprawy doktorskiej wkraść się błąd w numeracji celów pracy.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską i oświadczeniami Doktorantki oraz współautorów publikacji, określającymi udział każdego z nich w badaniach i przygotowaniu publikacji stwierdzam, że Doktorantka wykazała się niezbędną wiedzą, umiejętnością samodzielnego planowania i prowadzenia badań.

Rozprawa doktorska *Evaluation of selected parameters of autonomic nervous system activity and gastric myoelectric activity in celiac disease patients* przygotowana pod kierunkiem prof. Małgorzaty Zwolińskiej-Wcisło przedstawia oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia kryteria ustawy o stopniach i tytułach naukowych z dnia 18 marca 2011 r. w związku z czym, mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego – Collegium Medicum w Krakowie **wniosek o dopuszczenie lek. Magdaleny Przybylskiej-Feluś do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

dr hab. n. med. Ewa Nowakowska-Duńska
specjalista chorób wewnętrznych
gastroenterolog
3197768



Dr hab.n.med. Ewa Nowakowska-Duńska

Katowice, 6 marca 2017