



**KLINIKA PNEUMONOLOGII
KATEDRA PNEUMONOLOGII I ALERGOLOGII
GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

Kierownik: prof. dr hab. med. Jan Marek Słomiński
ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk, tel: (58) 349 16 25; fax: (58) 341 16 77

prof.dr hab.med. Anna Dubaniewicz
Klinika Pneumonologii
Katedra Pneumonologii i Alergologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
e-mail: aduban@gumed.edu.pl

Gdańsk, dn.22.06.2015

**Ocena Rozprawy Doktorskiej
mgr Anny Obrochty**

**„OCENA PRZYDATNOŚCI BADANIA CYTOLOGICZNEGO
W DIAGNOSTYCE SARKOIDOZY”**

Promotor

Dr hab.n.med. Marcin Zieliński

**Centrum Onkologii-Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie
w Warszawie**

W przedstawionej mi do oceny pracy podjęto bardzo ważne zagadnienie diagnostyki sarkoidozy, w tym próbę oceny przydatności zastosowania technik biopsji cienkoigłowej przezoskrzelowej (EBUS-FNA) i/lub przezprzełykowej (EUS-FNA) pod kontrolą ultrasonografii w rozpoznaniu tej choroby. Ponadto Doktorantka w nowatorski sposób podjęła się próby ustalenia precyzyjnych cytologicznych kryteriów jakościowych, jak i ilościowych materiału pobranego podczas w/w endoskopii w diagnostyce SA.

Pomimo ogromnego postępu badań nie ustalono do chwili obecnej przyczyny sarkoidozy. Uważa się, że u ludzi predysponowanych genetycznie, czynniki środowiskowe (infekcyjne, jak i nieinfekcyjne, suplementacja witaminy D) indukują rozwój ziarniny sarkoidalnej w zajętych chorobowo narządach z przewagą limfocytów $CD4^+$ nad $CD8^+$, przy niedoborze komórek $CD4^+$ we krwi obwodowej, co skutkuje anergią obwodową u ok. 70 % tych chorych.

Rozpoznanie sarkoidozy wymaga łącznej oceny obrazu klinicznego, radiologicznego oraz histopatologicznego z obecnością nieserowaciejących ziarniniaków w materiale biopsyjnym, po wykluczeniu wszystkich innych przyczyn tworzenia ziarniny, np. chłoniaków, odczynów sarkoidalnych w przebiegu nowotwu, pylic, beryliozy, grzybic, ziarniniakowości z zapaleniem naczyń (dawniej ziarniniak Wegenera), zespołu Churg-Strausa, limfoidalnego śródmiąższowego zapalenia płuc, czy mykobakterioz. Jednak z uwagi na podobieństwo obrazu klinicznego i histopatologicznego sarkoidozy do gruźlicy (Tbc), najczęściej rozważany jest udział *Mycobacterium tuberculosis* i jego antygenów, w etiopatogenezie tej choroby. Pomyłkowa

diagnoza i włączenie niewłaściwego leczenia, zwłaszcza w przypadku Tbc czy nowotworu może być tragiczne w skutkach.

Dlatego ustalenie rozpoznania sarkoidozy i wykluczenie innych przyczyn tworzenia nieserowaciejacej ziarniny, na podstawie badania histopatologicznego biopsji z zajętego przez proces chorobowy jest koniecznym elementem procesu diagnostycznego tej choroby. I w tym punkcie rozprawa doktorska mgr Anny Obrochty wpisuje się w nurt aktualnych i niezwykle istotnych badań.

Praca zaopatrzona jest wstępem, wylistowaniem celów, charakterystyką grup badanych i metod badawczych, omówieniem wyników, dyskusją, a także wnioskami końcowymi. 90 pozycji piśmiennictwa, pochodzących z okresu od 1877 roku do opublikowanych w 2013 roku, zestawiono poprawnie ale z nielicznymi brakami (pozycja 23 i 72 nie zawiera roku i wolumenu publikacji). Kończy rozprawę spis 15 rycin oraz 25 tabel.

We wstępie Doktorantka zawarła informacje, dotyczące epidemiologii oraz etiopatogenezy sarkoidozy. Następnie Autorka przedstawiła i podkreśliła znaczenie łączności obrazu klinicznego, radiologicznego oraz badania histopatologicznego w rozpoznaniu tej choroby. W kolejnym etapie zaprezentowała informacje dotyczące dostępnych metod biopsji chorobowo zmienionych narządów, w tym omówiła nowe techniki biopsji cienkoigłowej przezoskrzelowej (EBUS-FNA) i przezprzełykowej (EUS-FNA) pod kontrolą ultrasonografii oraz scharakteryzowała obraz histopatologiczny materiału biopsyjnego, sarkoidalnego ziarniniaka. Autorka również podkreśliła niebezpieczeństwo pomyłkowej diagnozy, przedstawiając obraz kliniczny i histopatologiczny ziarniny w różnych jednostkach chorobowych. Chciałabym jednak zauważyć, że w przypadku podejrzenia sarkoidozy śledzony z objawami hipersplenizmu może być rozważana splenektomia, nigdy biopsja tego narządu.

Na podstawie zaprezentowanych danych, Doktorantka sformułowała cele, z których próba ustalenia precyzyjnych cytologicznych kryteriów jakościowych, jak i ilościowych materiału pobranego podczas w/w endoskopii w diagnostyce SA, wykazuje cechy istotnego postępu badawczego w zakresie podjętego w/w tematu.

Badania przeprowadzono wśród losowo wybranej grupy 280 chorych z limfadenopatią śródpiersia, u których wykonano diagnostyczną biopsję cienkoigłową pod kontrolą USG (EBUS-FNA i/lub EUS-FNA) węzłów chłonnych śródpiersia i wnęk płucnych a materiał biopsyjny został poddany analizie cytologicznej.

Doktorantka zastosowała standardową metodę barwienia Hematoksylina-Eozyna preparatów cytologicznych, które następnie oceniała w mikroskopie świetlnym. Metody zostały opisane wyczerpująco i szczegółowo, co wskazuje na głęboką wiedzę i przygotowanie mgr Anny Obrochty do pracy badawczej. Sposób korzystania z obliczeń statystycznych Autorki świadczy o dużej wiedzy i dobrym opanowaniu warsztatu.

Wyniki badania podzielono według poszczególnych etapów analizy i przedstawiono w przejrzysty sposób: opis, tabela i ilustrująca wynik barwna rycina. Operowanie odpowiednio dobranymi kolarami podkreśla znaczenie stwierdzonych różnic statystycznych.

U 280 chorych z limfadenopatią węzłów chłonnych śródpiersia wykonano 226 biopsji metodą EBUS-FNA i 243 EUS-FNA, kiedy wynik badania cytologicznego materiału biopsyjnego uzyskanego drogą EBUS-FNA był negatywny. Sarkoidozę potwierdzono cytologicznie u 251 badanych. Największą grupę (70,52 %) stanowili pacjenci w fazie I bądź II choroby. Porównanie wyników badania cytologicznego z weryfikacją rozpoznania sarkoidozy (drogą telefoniczną)

wskazało na 96,20 % czułość tej metody 97,1 % swoistość oraz 96,41 % dokładność. Wartość predykcyjna dodatnia (PPV) wyniosła 98,88 %, a ujemna (NPV) 90,28 %. Porównano również skuteczność diagnostyczną metod EBUS-FNA i EUS-FNA oraz łącznej metod (EBUS-FNA i EUS-FNA) CUS. Czułość, swoistość, dokładność, PPV i NPV wyniosły odpowiednio dla EBUS-FNA: 72,22 %, 97,83 %, 82,20 %, 98,11% i 69,23 %, dla EUS-FNA: 97,44 %, 90,91 %, 99,19 % i 71,70 % oraz dla CUS: 95,68 % 97,06 %, 96,05 %, 98,88 % i 89,19 %.

W drugiej części pracy, Doktorantka w sposób nowatorski stworzyła cytologiczne kryteria jakościowe, jak i ilościowe materiału pobranego podczas w/w endoskopii w diagnostyce SA w oparciu o porównanie dwóch grup pacjentów: 42 osób z potwierdzoną SA przy pomocy w/w metod oraz 42 osób z limfadenopatią śródpiersiową, u których wykluczono sarkoidozę. Na podstawie wykonanych analiz Doktorantka wykazała, że bardzo dobre własności dyskryminacyjne w diagnozowaniu SA mają nabłonkowate histiocyty w postaci płatów, strzępków czy sferycznych struktur. Nieco gorsze własności dyskryminacyjne mają komórki olbrzymie. Autorka wykazała, że zwłókniały węzeł chłonny nie różnicuje istotnie sarkoidozy od innych przyczyn limfadenopatii śródpiersiowej pacjentów.

W Dyskusji, uzyskane oryginalne wyniki Doktorantka omówiła z głęboką znajomością tematu i odniosła je do wyników innych. Ponieważ nie znaleziono w dostępnym piśmiennictwie prac tak precyzyjnej oceny cytologicznego materiału biopsyjnego, otrzymanego drogą EBUS-FNA oraz EUS-FNA, Doktorantka zaproponowała minimalne kryteria cytologiczne, które pozwalają na dokładniejszą diagnozę sarkoidozy przy użyciu w/w metod. Autorka odniosła się także do różnicowej diagnostyki ziarniny, zwłaszcza gruźlicy czy odczynu sarkoidalnego w przebiegu nowotworów, którego mechanizm powstawania pozostaje niejasny.

Przeprowadzone badania pozwoliły na poprawne sformułowane wniosków, stosownie do wyznaczonych celów.

Praca napisana jest starannie, w zwięzłym, poprawnym stylu, chociaż Doktorantka nie ustrzegła się błędów literowych i topograficznych (np. Rycina 8, zamiast 2 chorych na Tbc widnieje 12 pacjentów). Jednak ze względu na nowatorski charakter tej rozprawy, powyższe uwagi nie umniejszają jej wartości. Odbiór pracy ułatwia zamieszczony na początku pracy spis skrótów zamieszczonych w tekście.

Biorąc powyższe pod uwagę, wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Centrum Onkologii-Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie o dopuszczenie mgr Anny Obrochty do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

2 uzgodnieniami
prof. dr hab. med Anna Dubaniewicz
lekarz chorób wewnętrznych
specjalista chorób płuc
3716636.
Anna Dubaniewicz