

OCENA

Rozprawy doktorskiej lek. med. Jakuba Szlaka p.t.: Zakażenie wirusem cytomegalii (CMV) u pacjentów z aktywnym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego-
prospektywne badanie obserwacyjne.

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG) należy obok choroby Leśniowskiego-Crohna (ChLC) do grupy chorób określanych łącznie mianem nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ). Charakteryzują się one przewlekłym przebiegiem i wybitną tendencją do okresowych zaostrzeń.

Udział czynników infekcyjnych w wywoływaniu zaostrzeń WZJG nie budzi obecnie wątpliwości. Szczególną rolę odgrywa tu cytomegalowirus (CMV). CMV występuje powszechnie w populacji całego świata. Zakażenie CMV u osób zdrowych jest zwykle bezobjawowe, a jedyną oznaką jego przebiecia jest obecność przeciwciał anti-CMV w klasie IgG w surowicy krwi.

Choroby zapalne, glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne, stosowane powszechnie w leczeniu NChZJ mogą sprzyjać aktywacji wirusa i wpływać na przebieg kliniczny tych schorzeń. CMV stwierdza się w tkance zmienionego zapalnie jelita w przebiegu WZJG wielokrotnie częściej, w porównaniu do ogólnej populacji. Dotyczy to szczególnie steroidoopornych i steroidozależnych postaci choroby. Szereg doniesień, chociaż nie wszystkie, wskazuje na korzystny efekt leczenia przeciwwirusowego w ciężkich rzutach WZJG z infekcją CMV. Nie ma jednak jednoznacznych rekomendacji co do celowości diagnozowania zakażenia w każdym przypadku choroby oraz do ew. leczenia przeciwwirusowego. W piśmiennictwie istnieje ponad 20 definicji zakażenia CMV, kilka definicji zapalenia jelit, wywoływanego przez wirusa, wiele kryteriów rozpoznania reaktywacji oraz blisko 30 różnych metod diagnostycznych. Brak jest również określenia jednoznacznych punktów odcięcia w poszczególnych metodach od których zakażenie należy uznać za istotne klinicznie.

Doniesienia literaturowe na temat roli CMV w przebiegu WZJG oparte są przeważnie na retrospektywnych badaniach niewielkich grup pacjentów. Wszystko to razem wskazuje na konieczność przeprowadzenia prospektywnych badań dotyczących tego ważnego zagadnienia.

Dlatego też zadanie jakie postawił sobie lek. med. Jakub Szlak, polegające na ocenie wpływu zakażenia CMV na częstość kolektomii, zaostrzeń, modyfikacji leczenia i oceny jakości życia u pacjentów z WZJG jest w pełni uzasadnione i ze wszech miar interesujące.

Przedstawiona mi do recenzji praca ma typowy układ, liczy 83 strony tekstu, w tym 68 pozycji piśmiennictwa, materiałów uzupełniających, zgodę komisji bioetycznej, zgodę pacjenta i kwestionariusz IBDQ, użyty w badaniu. W pracy umieszczono 12 tabel i 3 ryciny.

W pierwszej części liczącego 18 stron wstępu lek. med. Jakub Szlak przedstawia współczesny stan wiedzy na temat epidemiologii i etiopatogenezy WZJG. Omówiony jest obraz kliniczny choroby, diagnostyka, ocena aktywności i klasyfikacja zasięgu zmian zapalnych. Opisane zostały leki stosowane w leczeniu WZJG oraz wskazania do leczenia operacyjnego czyli kolektomii, stosowanego w przypadku niepowodzenia leczenia farmakologicznego. Przedstawione też zostały zasady nadzoru onkologicznego u pacjentów z długotrwałym przebiegiem choroby.

W drugiej części wstępu Autor omawia zagadnienia związane z zakażeniem cytomegalowirusem (CMV), podkreślając powszechność występowania wirusa w populacji świata, stany kiedy dochodzi do jego aktywacji oraz wywoływania klinicznie istotnej choroby. Przedstawione są niemolekularne i molekularne metody diagnostyki zakażenia a także metody jego leczenia.

Szczególnie interesująca się ostatnia część wstępu, w której lekarz med. Jakub Szlak omawia współczesny stan wiedzy na temat udziału CMV w przebiegu NChZJ, a w szczególności WZJG. Podkreślona jest wpływ zakażenia wirusem na przebieg choroby zapalnej, skuteczność i ew.

niepowodzenie leczenia choroby podstawowej. Przytoczone są rozbieżne niekiedy wyniki prac określające związek występowania CMV ze zwiększonym ryzykiem kolektomii w przebiegu WZJG, a także skuteczności, lub braku efektu leczenia przeciwwirusowego na jej uniknięcie. Dokładnie omówione są badania diagnostyczne oraz problem z określeniem tzw. punktów odcięcia wyników tych badań i określeniem kryteriów konieczności wdrożenia takiego leczenia. To właśnie rozbieżności istniejące w doniesieniach z piśmiennictwa skłoniły Autora do podjęcia badań, których celem była prospektywna ocena częstości występowania i znaczenia rokowniczego zakażenia CMV u pacjentów z aktywnym WZJG., a także potencjalnego wpływu tego zakażenia na przebieg choroby.

Wstęp napisany jest w sposób interesujący i dobrze wprowadza czytelnika w zagadnienie, będące przedmiotem dysertacji doktorskiej. Lek med. Jakub Szlak wykazał dużą znajomość najnowszych doniesień literaturowych, przedstawionych w sposób przejrzysty i syntetyczny, co świadczy nie tylko o wiedzy na omawiany temat, ale również o umiejętności naukowego wyrażania myśli. Pozwala to Autorowi na przejście do sformułowania celu planowanych badań.

W rozdziale - „Cel pracy” przedstawiono pierwszorzędowy punkt końcowy, którym było porównanie częstości kolektomii u pacjentów hospitalizowanych z powodu zaostrzenia WZJG, u których stwierdzono zakażenie CMV w wycinkach błony śluzowej jelita grubego, w porównaniu z chorymi bez tego zakażenia. Drugorzędownymi punktami końcowymi były oceny częstości zaostrzeń oraz częstości zaostrzeń wymagających modyfikacji leczenia, a także ocena jakości życia w kwestionariuszu IBDQ na początku i na końcu obserwacji w obu badanych grupach.

Rozdział; „Metodologia” (powinno być raczej - metodyka) obejmuje cały projekt, kryteria włączenia i wyłączenia z badań.

U pacjentów przyjętych do kliniki z powodu ciężkiego lub średniociężkiego zaostrzenia WZJG wykonywano kolonoskopię z pobraniem wycinków do badań histopatologicznych i immunohistochemicznych (IHC), przeprowadzono ocenę aktywności w skali Mayo (kliniczną i endoskopową). Oznaczono także poziom kalprotektyny w kale. W ocenie mikroskopowej uwzględniano aktywność zapalenia oraz obecność antygenu CMV w barwieniu IHC. Odnotowywano również sposób leczenia z uwzględnieniem kortykosteroidów, leków immunosupresyjnych oraz leków biologicznych. Pacjenci wypełniali kwestionariusz IBDQ, a następnie byli obserwowani przez okres ok. 2 lat. W tym czasie gromadzono dane dotyczące ew. przebiegu kolektomii, liczby hospitalizacji, aktywności choroby i modyfikacji stosowanego leczenia. Pod koniec okresu obserwacji pacjenci nie operowani ponownie wypełniali kwestionariusz IBDQ. W rozdziale opisano metodykę badań histopatologicznych, immunohistochemicznych (IHC), a także oznaczenie materiału genetycznego wirusa w surowicy krwi i kale metodą PCR.

Wyniki poddano analizie statystycznej.

Metodykę przeprowadzonych badań opisano dokładnie i wyczerpująco. Podział chorych na grupy i zaplanowanie całego badania dokonane jest prawidłowo. Zastosowane metody statystyczne są dobrane prawidłowo, w sposób nie budzący jakichkolwiek zastrzeżeń.

Wyniki i ich analizę przedstawiono na stronach 39 - 47.

Ostatecznej analizie poddano 84 pacjentów (40 kobiet i 44 mężczyzn), leczonych w Klinice Gastroenterologii Onkologicznej w latach 2016 - 2019, którzy spełnili kryteria włączenia do badania.

U 16 pacjentów (19%) w chwili rozpoczęcia badania stwierdzono obecność CMV w wycinkach błony śluzowej jelita grubego oznaczanych metodą immunohistochemiczną (IHC). U pacjentów z dodatnim wynikiem IHC obserwowano bardziej nasilone zmiany endoskopowe w skali Mayo niż u

chorych z wynikiem ujemnym. Częściej też byli oni w trakcie leczenia glikokortykosteroidami. Nie wykazano natomiast zależności dodatniego odczynu na CMV od stosowanych leków immunosupresyjnych i biologicznych, a także stężenia kalprotektyny w kale.

Analizując pierwszorzędowy punkt końcowy postawiony przez Doktoranta w swoim projekcie badawczym, w okresie obserwacji, nie stwierdzono różnicy w częstości kolektomii między chorymi z dodatnim i ujemnym wynikiem oznaczenia IHC w kierunku CMV. Analizując liczbę komórek z dodatnim wynikiem IHC nie wykazano potencjalnego punktu odcięcia, od którego ryzyko kolektomii jest zwiększone. Częstość hospitalizacji także nie różniła się istotnie w zależności od obecności CMV.

Nie stwierdzono istotnych różnic w modyfikacji leczenia WZJG (glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne) w zależności od dodatniego bądź ujemnego wyniku IHC na CMV. Natomiast w grupie pacjentów z ujemnym wynikiem odsetek pacjentów, u których rozpoczęto leczenie biologiczne był istotnie większy niż w grupie z wynikiem dodatnim. (Czy powodem nie były wymogi programu lekowego, w którym przed włączeniem leczenia należy wykluczyć czynne i utajone infekcje?).

Wskaźniki jakości życia, mierzone za pomocą kwestionariusza IBDQ na początku i pod koniec obserwacji nie wykazywały różnic pomiędzy obiema badanymi grupami chorych. Jednakże badanie porównawcze jakości życia po okresie obserwacji możliwe było tylko u chorych, którzy nie przebyli kolektomii.

Leczenie przeciwwirusowe gancyklowirem przeprowadzono u 12 z 16 pacjentów z obecnością CMV. Nie podane są jednak powody, dlaczego u 4 pozostałych tego leczenia nie stosowano. Nie stwierdzono różnicy w częstości kolektomii, liczbie hospitalizacji i częstości rozpoczynania leczenia

biologicznego u pacjentów leczonych i nie leczonych przeciwwirusowo. 2 z 4 pacjentów z obecnością CMV (nie leczonych gancyklowirem) otrzymało leczenie biologiczne, co może być zastanawiające, ponieważ wprawdzie w kwalifikacji do leczenia w programie lekowym nie ma wymogu wykluczenia zakażenia CMV, to jednak leczenia takie nie powinno być stosowane u pacjentów jakakolwiek czynną infekcją.

Leczenie biologiczne natomiast było istotnie częściej inicjowane u chorych z ujemnym wynikiem CMV, co wg Autora może sugerować cięższy przebieg choroby. Z drugiej strony pacjenci z dodatnim CMV i leczeni przeciwwirusowo pomimo bardziej nasilonych zmian endoskopowych rzadziej wymagali leczenia biologicznego. Wprawdzie liczba pacjentów w tej grupie jest zbyt mała dla wyciągnięcia ostatecznych wniosków, ale wg Doktoranta sugeruje to, że wykrycie i leczenie infekcji CMV może pozwolić na osiągnięcie remisji bez konieczności stosowania leków biologicznych.

Porównanie dwóch metod diagnostycznych służących do wykrywania CMV, a więc metody IHC oraz PCR w kale i krwi nie wykazało istotnych różnic w zależnościach od częstości kolektomii, liczby hospitalizacji oraz konieczności stosowania leczenia biologicznego.

W rozdziale 7 – Omówienie wyników (str.48-57) lek med. Jakub Szlak dokonuje obszernej i wnikliwej analizy uzyskanych przez siebie wyników, porównując je z danymi z piśmiennictwa. Doktorant przytacza wyniki prac określające częstość występowania zakażenia CMV w przebiegu WZJG oraz czynników ryzyka infekcji takich jak przede wszystkim leczenie glikokortykosteroidami i nasilenie zmian endoskopowych. Obserwacje literaturowe w większości pokrywają się z wynikami uzyskanymi w dysertacji doktorskiej. Rozbieżne są natomiast doniesienia co do wpływu zakażenia CMV na ryzyko kolektomii. Autor słusznie zauważa, że większość opublikowanych prac opiera się na badaniach retrospektywnych, w wybranych grupach pacjentów.

Istnieją też znaczne różnice w metodach badań, nie zawsze odzwierciedlających rzeczywiste cytomegalowirusowe zapalenie jelita grubego, tak jak np. badania serologiczne. Zaletą niniejszej pracy, jak słusznie zauważa Doktorant, jest „prospektywny charakter oceny oraz badanie wycinków błony śluzowej na obecność CMV u wszystkich hospitalizowanych pacjentów, a nie jedynie u wybranych, z dodatkowymi czynnikami ryzyka ciężkiego przebiegu choroby”.

W dalszej części tego rozdziału omówiono doniesienia literaturowe dotyczące wpływu zakażenia CMV oraz jego leczenia na częstość kolektomii i hospitalizacji, konfrontując to z wynikami uzyskanymi w pracy doktorskiej.

Przeprowadzona przez lek. med. Jakuba Szłaka dyskusja potwierdza jego przygotowanie teoretyczne, umiejętność krytycznej analizy wyników i redagowania prac naukowych. Wykonane przez Doktoranta badania dały podstawę do wyciągnięcia prawidłowo sformułowanych wniosków przedstawionych w rozdziale 8 - Podsumowanie i wnioski końcowe.

Za najistotniejsze uważam stwierdzenia :

1. Zakażenie CMV występuje istotnie częściej u pacjentów w trakcie steroidoterpii
2. Zakażenie CMV podczas hospitalizacji z powodu WZJG nie wiązało się ze zwiększonym ryzykiem kolektomii oraz kolejnych hospitalizacji, co oznacza, że nie ma wskazań do rutynowego wykonywania tego badania u wszystkich pacjentów.
3. Poszukiwanie zakażenia CMV u pacjentów z ciężkimi zmianami endoskopowymi (Mayo 3) i jego leczenie może pozwolić na uzyskanie remisji bez konieczności leczenia biologicznego.

Streszczenie w języku polskim i angielskim jest prawidłowo zredagowane i zawiera wszystkie, niezbędne dla szybkiego zapoznania się z pracą elementy.

Starannie dobrane piśmiennictwo obejmuje 68 pozycji, cytowanych w tekście, opublikowanych w ciągu ostatnich kilku lat.

Praca napisana jest poprawnym językiem polskim. Stanowi samodzielne dokonanie Autora, istotnie poszerzające wiedzę na temat roli zakażenia CMV we WZJG. Ma to znaczenie nie tylko poznawcze, ale przede wszystkim posiada ważny aspekt kliniczny.

Lek. med. Jakub Szlak wykazał się bogatą wiedzą, umiejętnością prawidłowego określenia problemu badawczego, jasnego sformułowania celów, zaplanowania badań i realizacji zaplanowanych zamierzeń. Udowodnił, że potrafi prowadzić badania naukowe.

Reasumując, recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.).

Przedstawiam zatem Wysokiej Radzie Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie, Państwowego Instytutu Badawczego wniosek o dopuszczenie lek. med. Jakuba Szlaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. med. Piotr Radwan

