



Instytut Matki i Dziecka

Klinika Pediatrii

Kierownik: prof. nadzw. dr hab. med. Konrad Kamil Hozyasz

Institute of Mother and Child
L'Institut de la Mère et de l'Enfant

Warszawa, dn. 16.05.2017

OCENA

rozprawy doktorskiej lekarza Jana Krzysztofa Nowaka „Nowe metody diagnostyczne w gastroenterologii dziecięcej”

Już od czasów starożytnych można obserwować oscylowanie etosu medycyny pomiędzy zasadniczymi priorytetami. Przed lekarzem stoi zadanie zadbania o dobro konkretnej jednostki, tj. chorego, przyczyniania się do utrzymania dobrego stanu zdrowotnego całego społeczeństwa i poszerzania armamentarium diagnostyczno-terapeutycznego, które powinno cechować jak największe bezpieczeństwo podczas stosowania. W przysiędze Hipokratesa znajdujemy słowa „Sposób życia urządzić będę chorym dla ich dobra podług sił moich i zdolności, dalekim od wszelkiego uszkodzenia i krzywdy wszelakiej”.

Rozprawę na stopień naukowy doktora nauk medycznych w dyscyplinie medycyna zatytułowaną „Nowe metody diagnostyczne w gastroenterologii dziecięcej” lekarza Jana Krzysztofa Nowaka stanowi pięć publikacji:

- Biomedical Optics Express 2013;5:259-274 (nazywana w recenzji „praca 1”)
- PloS One 2015;10:e0117517 („praca 2”)
- Advances in Medical Sciences 2017;62:103-109 („praca 3”)
- Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2015;61:212-214 („praca 4”)
- Scientific Reports 2014;4:4768 („praca 5”).

Prace 1, 2, 3 i 5 są pełnotekstowymi artykułami oryginalnymi w języku angielskim natomiast *praca 4* ma postać krótkiego doniesienia oryginalnego w języku angielskim (short report). Do publikacji Doktorant załączył zarys pt. „Podsumowanie osiągnięć pracy doktorskiej” wraz ze streszczeniami w języku polskim i angielskim, uchwały Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu i oświadczenia współautorów publikacji.

Doktorant jest pierwszym autorem czterech prac natomiast drugim autorem jednej pracy (*praca 1*). Uczestniczył w planowaniu badań, rekrutował uczestników i wykonywał pomiary (*praca 1-3*), współanalizował i interpretował dane, napisał manuskrypty *prac 2-5* oraz współuczestniczył w napisaniu manuskryptu *pracy 1*.

W *pracy 1*, analizującej *in vivo* budowę błony śluzowej wargi dolnej i gruczołów ślinowych mniejszych w zespole Sjögrena, grupę badaną stanowiło 11 pacjentek w wieku dorosłym (średnia wieku - 59 lat) i 11 zdrowych kobiet (średnia wieku - 54 lata). Jako metodę obrazowania wykorzystano optyczną tomografię koherencyjną w oparciu o prototypowy laser strojony (swept source Optical Coherence Tomography, ssOCT). Stwierdzono wysoką powtarzalność pomiarów wybranych parametrów morfometrycznych, jednakże grupy chorych i zdrowych nie różniły się w uśrednionej ocenie. Pomędzy podgrupami chorych (z lub bez powikłań stomatologicznych suchości jamy ustnej /5 vs 6/, z lub bez objawu Raynauda /5 vs 6/ oraz przyjmujących lub nie chlorochinę /4 vs 7/) zidentyfikowano istotne statystycznie różnice w zakresie cech budowy błony śluzowej wargi dolnej i gruczołów ślinowych mniejszych.

W *pracy 2*, analizującej odrębności błony śluzowej wargi dolnej w mukowiscydozie, zbadano 18 chorych w wieku uśrednionym 24 lat a grupę porównawczą stanowiło 18 zdrowych ochotników w podobnym wieku. Wykorzystując tomografię koherencyjną ssOCT stwierdzono o 1/3 mniejszą gęstość powierzchniową gruczołów ślinowych mniejszych (4,32 gruczoły/cm² vs 6,58 gruczoły/cm²; p=0.006 przy analizowanej powierzchni 2,43 cm²) u chorych na mukowiscydozę. Wiarygodność przeprowadzanej interpretacji mikroarchitektury błony śluzowej („biopsja optyczna”) pozytywnie zweryfikowano wykorzystując model zwierzęcy (*Sus scrofa*) z badaniem błony śluzowej wargi dolnej ssOCT i histologicznym wycinków. *Pracy 2* towarzyszyło szerokie udostępnienie danych w repozytorium internetowym, co stanowi wymóg platformy czasopism PloS.

W *pracy 3* analizowano zależności pomiędzy epizodami refluksowymi przełyku i ich charakterystyką, rejestrowaną za pomocą 24-godzinnej impedancji przełykowej, i krótkookresową zmiennością napięcia przywspółczulnego, identyfikowaną w 24-godzinnej elektrokardiografii. Pomiary wykonano u 16 chorych w wieku od 6 do 18 lat o wysokości ciała co najmniej 100cm, zakwalifikowanych do przeprowadzenia diagnostyki w kierunku choroby refluksowej przełyku. Nie stwierdzono istotnych powiązań pomiędzy aktywnością przywspółczulną, wyrażoną poprzez moc widma w zakresie wysokich częstotliwości oraz pierwiastek kwadratowy ze średniej kwadratów różnic pomiędzy kolejnymi interwałami R-R, a epizodami refluksowymi w badanej grupie dzieci chorych.

Celem *pracy 4* było opracowanie wzoru służącego przewidywaniu optymalnej głębokości założenia sondy pH-metrycznej do przełyku. Na podstawie analizy statystycznej archiwalnych danych dotyczących 353 pacjentów w wieku rozwojowym z założonym sensorem na wysokości dwóch kręgów ponad przeponą zaproponowano prosty wzór na optymalną głębokość zakładania sondy ($L = 1/5$ wysokości ciała [cm] + 3,2 cm), sprawdzający się klinicznie w ponad 70% ogółu przypadków oraz u ponad połowy dzieci poniżej 2 roku życia.

W *pracy 5* oceniono częstość występowania niedoboru witaminy K u polskich chorych z nieswoistymi zapaleniami jelit w wieku rozwojowym. W tym - co wymaga podkreślenia - wielośrodkowym badaniu zrekrutowano 53 pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna i 63 z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Stan niedoboru witaminy K diagnozowano w oparciu o stwierdzenie wysokiego (≥ 2 ng/mL) stężenia w surowicy białka indukowanego niedoborem tej witaminy PIVKA-II (protein induced by vitamin K absence-II, tzw. niekarboksylowana protrombina) w pomiarach metodą immunoenzymatyczną bez równoczesnej oceny podaży filochinonów w diecie. U połowy pacjentów stwierdzono niedobór witaminy K, przy czym leczenie biologiczne było powiązane z mniejszą częstością niedoboru. Zaobserwowano ponadto zależność częstszego występowania wysokich stężeń PIVKA-II u lepiej odżywionych dzieci z chorobą Leśniowskiego-Crohna, czego przyczyna pozostaje niejasna.

Wszystkie pięć prac cechuje klarowne sprecyzowanie celu, właściwy dobór metod badawczych i statystycznych, uporządkowane przedstawienie wyników, trafne wnioski oraz pogłębiona dyskusja, obejmująca także dyskurs o występujących ograniczeniach.

We wszystkich publikacjach Doktoranta przedstawiono badania naukowe wykorzystujące nowe metody diagnostyczne lub ich udoskonalenia. W *pracy 1 i 2* był to nowy wariant tomografii koherencyjnej i jednocześnie dotychczas w ten sposób nieeksplorowany, łatwo dostępny do badania obszar organizmu człowieka, jakimi jest błona śluzowa wargi dolnej z gruczołami ślinowymi mniejszymi. Tomografia koherencyjna, jako badanie o krótkim czasie wykonywania i praktycznie pozbawione działań niepożądanych jest szczególnie cenne dla specjalności medycznych w szeroko pojętej pediatrii. Stale udoskonalaną metodą diagnostyczną pozostaje 24-godzinna pH-metria przełyku z impedancją, dzięki której można ocenić wiele parametrów, jak np. liczbę, czas trwania i pH epizodów refluksowych oraz korelację dolegliwości z epizodami refluksowymi. W *pracy 3* nowatorsko sprzęgnięto 24-godzinną impedancję przełykową (złoty standard w diagnostyce choroby refluksowej przełyku) i 24-godzinną elektrokardiografię, co było na etapie projektowania badania pionierskim rozwiązaniem a aktualnie zaczęło być szerzej wykorzystywane w badaniach naukowych (*vide* publikacja D-D Djeddi i wsp. w PloS One 2013 z udziałem 19 noworodków o średniej masie ciała 3,4 kg, w której sprzęgnięto impedancję przełykową z polisomnografią). *Praca 4* stanowi oryginalny wkład w usprawnienie zakładania sondy pH-metrycznej do przełyku u pacjentów w wieku rozwojowym. *Praca 5* motywuje do poszukiwania niedoborów witaminy K za pomocą oznaczeń w surowicy jego markera PIVKA-II. Co pouczające, w ostatnio opublikowanych „Wytycznych postępowania z chorymi na nieswoiste choroby zapalne jelit w praktyce lekarza rodzinnego” (Maciej Gonciarz i wsp., Lekarz POZ 2017) wśród powikłań, na drugim miejscu po niedożywieniu a przed osteoporozą i osteopenią, wymieniane są „Hipowitaminozy”, ale punktu tego nie rozwinięto chociażby o jedno słowo. Plejotropowo działająca witamina K i monitorowanie jej homeostazy zasługuje na większe zainteresowanie profesjonalistów medycznych, czemu się może przysłużyć *praca 5*.

Ze względu na wiek uczestników badań z *pracy 1 i 2* można uznać, że była to forma przygotowań do przyszłego stosowania ssOCT w wieku rozwojowym, np. przy podejrzeniu nietypowych postaci mukowiscydozy. *Prace 3, 4 i 5* opierały się na badaniach przeprowadzonych u dzieci.

Recenzent czuje się w obowiązku podkreślić, że zespół Sjögrena jest przewlekłą egzokrynopatią najmniej poznaną wśród chorób o podłożu autoimmunologicznym a

metody diagnostyki poszczególnych postaci i doboru sposobów leczenia czekają na szczegółowe poznanie. Uzasadnia to celowość podejmowania badań nad tym zespołem i poszukiwania nowych metod diagnostycznych. Choroba refluksowa przełyku, nieswoiste zapalenia jelit oraz mukowiscydoza stanowią natomiast podstawowe obszary zainteresowań w gastroenterologii dziecięcej. Wprowadzenie badania przesiewowego noworodków w kierunku mukowiscydozy umożliwiło wczesne rozpoznawanie i leczenie tej uwarunkowanej genetycznie choroby, ale jednocześnie skutkuje wykrywaniem osób z wariantami genu *CFTR* o niejasnych skutkach klinicznych tzw. CFSPID (Cystic Fibrosis Screen Positive Inconclusive Diagnosis). Dla osób klasyfikowanych jako CFSPID powtarzane badanie błony śluzowej wargi dolnej z wykorzystaniem tomografii koherencyjnej może okazać się cennym narzędziem monitorowania dobrostanu i co ważne, jak wykazano w *pracach 1 i 2*, nieuciążliwym dla badanego, czyli akceptowalnym dla osób uważających się za zdrowe. Dobór analizowanych problemów zdrowotnych w pracach Doktoranta, zainteresowanego nowymi metodami diagnostycznymi i doskonaleniem już istniejących, świadczy o jego dojrzałości jako badacza-klinicysty i jest daleki od przypadkowego poszukiwania odrębności nieistotnych klinicznie.

Badania, przedstawione w *pracach 1-5* sfinansowano z polskich źródeł wspierania działalności naukowej. Przy takim finansowaniu szczególnie postuluje się dbałość o niepomijanie badaczy polskich w referencjach. Poza (auto)cytowaniami współautorów zidentyfikowałem w *pracy 3* odniesienia do artykułów innych autorów z Polski (Dobrek i wsp. 2004, Dobrek i wsp. 2005, Kwiecień i wsp. 2011).

Ciekawym zagadnieniem, na które chciałby recenzent skierować uwagę Doktoranta, pozostaje wpływ siły docisku płytki szklanej do wargi w ssOCT na wyniki oceny morfometrycznej błony śluzowej w różnych jednostkach chorobowych w powiązaniu z niedoborami witamin (np. retinolu i alfa-tokoferolu) i mikroelementów (np. cynku), które mogą dodatkowo zaburzać dobrostan błony śluzowej jamy ustnej - z czym nierzadko spotykamy się w gastroenterologii dziecięcej (np. w mukowiscydozie).

Proporcje budowy ciała dziecka istotnie zmieniają się z wiekiem. W związku z tym „rewolucyjnie” doskonałego wzoru na obliczenie optymalnej głębokości sondy pH-metrycznej u pacjentów pediatrycznych nie da się opracować bez dokonania podziału co najmniej na dzieci najmłodsze i pozostałą populację w wieku rozwojowym.

Interesujące byłoby ustalenie cezury wieku bądź wysokości ciała i opracowanie dwóch wzorów.

We wprowadzeniu „Podsumowanie osiągnięć pracy doktorskiej” wskazuję na występowanie drobnych błędów językowych (stylu), które nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy. Przykładowo w streszczeniu należałoby poprawić „Postęp nauki dostarcza nowych metod diagnostycznych” na „...nowe metody diagnostyczne”, czy „...próba rozwoju ...metod diagnostycznych” na „...próba opracowania/rozwinięcia...metod diagnostycznych”, etc.

Recenzent pozwolił sobie na zacytowanie przysięgi Hipokratesa we wstępie, ponieważ bardzo wysoko ocenia wysiłek Doktoranta aby własne, bardzo dobre manuskrypty opublikować w wymagających perfekcji od autorów, wysoko indeksowanych czasopismach naukowych (łącznie IF 15,9). Pracowitość i zdolności Doktoranta mają szansę przełożyć się na wprowadzenie nowych metod diagnostycznych, charakteryzujących się nieuciążliwością dla chorego, do praktyki lekarskiej.

Reasumując należy podkreślić, że omawiana dysertacja w pełni spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora. Po zapoznaniu się z aktywnością badawczą Doktoranta, a przede wszystkim po wnikliwym przestudiowaniu pięciu publikacji tworzących rozprawę („cykl prac”) recenzent uważa, że Autor wykazał się niepodważalną umiejętnością prowadzenia badań naukowych i wyciągania adekwatnych wniosków.

Przedłożoną mi rozprawę oceniam bardzo wysoko i wnioskuję do Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lekarza Jana Krzysztofa Nowaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z przekonaniem zgłaszam tę rozprawę do wyróżnienia.

