Gdynia, 04.11.2019

Prof. dr hab. Wiesław Janusz Kruszewski
Kierownik Zakładu Propedeutyki Onkologii
WNoZ z IMMiT Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Sz. P.
Dziekan
Wydziału Nauk o Zdrowiu
Warszawskiego Uniwersytetu
Medycznego
Dr hab. n. o zdr. Joanna Gotlib

Ocena pracy doktorskiej mgr inż. Marty Stelmasiak.
Tytuł: „Ocena zaburzeń wrodzonej odpowiedzi przeciwbakteryjnej u ciężko chorych z zakażeniami i niedożywieniem".

Promotor: prof. dr hab. n. med. Robert Słotwiński

Promotor pomocniczy dr hab. n. med. Barbara Bałan

Szanowna Pani Dziekan,
Wysoka Rado Wydziału Nauk o Zdrowiu
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego,

Wypełniając Uchwałę Nr 161/2017 Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 17 października 2017 roku przedstawiam ocenę pracy doktorskiej mgr inż. Marty Stelmasiak.

Pomimo stale dokonującego się postępu w diagnostyce i leczeniu chorych wymagających pobytu w oddziałach intensywnej terapii, wysoka umieralność w tej grupie pacjentów wciąż znacząco odbiega od oczekiwanej. Po części wynika to z braku czułych i swoistych markerów o znaczeniu predykcyjnym i prognostycznym, które ułatwiłyby bardziej optymalne i lepsze rokowniczo przeprowadzenie takiego chorego przez proces diagnostyczno-terapeutyczny. Dlatego wysoko oceniam przedstawiony mi do oceny projekt przeprowadzonego badania naukowego. Z założenia służy on rozpoznaniu takich czynników predykcyjnych i prognostycznych, które już na samym początku walki o życie i zdrowie pacjenta w OIT potencjalnie ustalą ryzyko ciężkich następstw i powikłań, w tym śmiertelnych. Ponieważ kluczową rolę w tej walce przypisujemy stanowi układu odpornościowego chorego nierozerwalnie związanego ze stopniem odżywienia pacjenta oraz poziomem zaburzeń w jego

wrodzonej odpowiedzi przeciwbakteryjnej – przeprowadzenie poszukiwań czynników predykcyjnych i rokowniczych w tym obszarze wydaję się najbardziej celowe. W tym celu doktorantka przeprowadziła swoje badania w oparciu o dużą grupę 163 chorych hospitalizowanych w OIT, u których postanowiła określić występowanie istotnych zaburzeń wrodzonej odpowiedzi immunologicznej w pierwszej dobie ich pobytu w OIT oraz zbadać oddziaływanie takich stanów jak ciężkie zakażenie oraz niedożywienie, na czynniki związane z wrodzoną odpowiedzią immunologiczną. Wyniki poczynionych obserwacji pozwoliły doktorantce na określenie wartości predykcyjnej i rokowniczej badanych parametrów co do ryzyka wystąpienia ciężkich powikłań oraz ryzyka zgonu w OIT. W osoczu krwi obwodowej oznaczano poziom białek: IL1-Ra, TNF-α, sTNFR1, IL-6, IL-10, sTLR4, MyD88, A20, HSP70, HMGB1. Taki dobór czynników charakteryzujących stan układu odpornościowego pacjenta tuż po przyjęciu do OIT wydaje się być właściwy i słuszny. Zarówno liczebność grupy badanej (n=163) oraz grupy kontrolnej złożonej z osób zdrowych (n=48), jak i dobrze dobrane metody oznaczeń, pozwoliły na osiągnięcie wiarygodnych wyników uzyskanych poprawnie zastosowanymi i właściwie dobranymi metodami analizy statystycznej. W zestawie ocenianych w pierwszym dniu pobytu w OIT parametrów znalazły się także: stopień ciężkości zakażenia (n=74 – ciężkie zakażenie), obecność sepsy (n=51), wstrząsu septycznego (n=24). Osobną grupę badaną stanowiły osoby bez współistniejących ciężkich zakażeń (n=88). 53% członków grupy badawczej (n=86) wymagało sztucznej wentylacji. Odnotowano 50 zgonów (31%), spośród których 42 (84%) stanowiły zgony osób ze średnim i ciężkim niedożywieniem. W 22 przypadkach doszło do zgonu w przebiegu ciężkiego zakażenia i w 28 u osób bez rozpoznania ciężkiego zakażenia. Tak dobrany materiał pozwolił na osiągnięcie wiarygodnych wyników o dużym znaczeniu klinicznym oraz naukowym, **a sposób osiągnięcia uzyskanych wyników jednoznacznie świadczy o oryginalnym rozwiązaniu postawionego problemu naukowego. Stało się to możliwe dzięki bogatej wiedzy teoretycznej doktorantki, która nie będąc lekarzem, potrafiła sprawnie połączyć dane z medycznej obserwacji klinicznej z danymi zmierzonymi metodami ilościowymi immunoenzymatyczną metodą ELISA. Nadto, potrafiła dokonać właściwej interpretacji oznaczeń w połączeniu z klinicznym przebiegiem procesu terapeutycznego i jego wynikami w szczególnej grupie bardzo ciężko chorych w OIT. Syntetyczny i czytelny przekaz uzyskanych wyników pracy doktorskiej, zawarty opisowo przez doktorantkę w rozdziale Podsumowanie i Wnioski, jednoznacznie potwierdza jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.**

Wyciągnięte wnioski posiadają dużą wartość praktyczną. Doktorantka stwierdziła pojawienie się istotnych zaburzeń wrodzonej odpowiedzi immunologicznej u pacjenta w stanie krytycznym wymagającego pobytu w OIT. Dowiodła udziału ciężkości zakażenia oraz stanu niedożywienia na poziom wielu czynników wyzwalanych pod wpływem stanu krytycznego, spośród których wiele może służyć jako przydatne markery o znaczeniu rokowniczym czy predykcyjnym. Doktorantka w swoich badaniach skupiła się na ocenie zmian stężeń wybranych cytokin i białek szlaku sygnałowego receptorów TLR4, które potencjalnie mogą służyć ocenie ciężkości stanu pacjenta w OIT oraz wskazywać na udział zakażenia w obrazie klinicznym pacjenta. Wykazała jednoznacznie, że nadmierna aktywacja komórek

układu odpornościowego prowadzi do wzrostu stężenia efektorów szlaku sygnałowego receptorów TLR. To z kolei pozwoliło doktorantce wyłonić te czynniki, które posiadają moc predykcyjną i rokowniczą. W szczególności dowiodła, że działająca przeciwzapalnie cytokina sTNFR1 w wysokim mianie, z różnicą istotną statystycznie, wskazuje na udział zakażenia jako markera złego stanu zdrowia pacjenta w OIT oraz potencjalnie wysokie ryzyko zgonu. W swoim badaniu zajęła się także oddziaływaniem stanu odżywienia pacjenta ocenionym przy przyjęciu do OIT różnymi metodami, na przebieg i wyniki podjętej terapii. Słusznie podkreśliła potrzebę wypracowania bardziej obiektywnych metod oceny stanu odżywienia w OIT w celu optymalizacji tak ważnej terapii żywieniowej wobec wymogu jej indywidualnego doboru u danego pacjenta. Wyniki jej badań wskazały na dyskusyjną wartość używanego do oceny stanu niedożywienia pacjenta w OIT pomiaru stężenia IL-6, szczególnie w przypadku chorych u których doszło do zgonu ze znaczącym udziałem zakażenia jako przyczyną zgonu pacjenta. Podniosło to celowość oznaczeń szerszego zestawu markerów wrodzonej odpowiedzi układu immunologicznego u pacjenta w OIT, zgodnego z testowanym w projekcie przez doktorantkę. Ponownie udało się jej wykazać wartość oznaczenia sTNFR1, tym razem jako markera stopnia niedożywienia, które im poważniejsze, tym bardziej sprzyja ryzyku zgonu chorego. Osiągnięte przez doktorantkę wyniki dotyczące zarówno sTNFR1 jak i pozostałych badanych czynników są cennym drogowskazem do kolejnych badań nad wczesnymi zaburzeniami wrodzonej odpowiedzi ze strony układu odpornościowego u pacjentów przyjmowanych do OIT. Zasługują na to z pewnością badane w pracy białka MyD88 oraz A20, istotne dla szlaków TLR2 i TLR4. Obok znamiennych różnic w stężeniach sTNFR1 doktorantka wykazała również różnice istotne statystycznie w stężeniach sTLR4 i IL-10 w przypadku współistniejących zakażeń. Znamiennie wyższe stężenia u chorych zmarłych dotyczyły IL-6, IL-10 czy HSP70. Co zasługuje na szczególną uwagę, doktorantka potrafiła krytycznie ocenić osiągnięte wyniki. Podkreśliła, że choć krew do badań pobierano tuż po przyjęciu pacjenta do OIT, to jednak chorzy trafiali tam w różnym stadium swojej choroby. Dlatego zapewne we wnioskowaniu uwydatniła jedynie rolę sTNFR1, czyli rozpuszczalnego receptora typu 1 dla czynnika martwicy nowotworu jako przydatnego markera oceny ciężkości stanu i potencjalnych zagrożeń w tej mocno heterogennej grupie pacjentów trafiających w stanie krytycznym do OIT.

Tekst rozprawy posiada typowy układ pracy naukowej z podziałem na typowe dla pracy oryginalnej rozdziały. Na 102 stronach tekstu z 33 wierszami na stronie autorka zamieściła także 5 tabel i 19 rycin. Pracę rozpoczęła od zapoznania czytelnika ze stosowanymi skrótami. Udało się doktorantce zachować właściwe proporcje pomiędzy rozdziałami. Tekst jest czytelny. Informacje o celu badawczym projektu są spójne i dobrze umotywowane poprzez treści zawarte w rozdziałach: Wstęp i Przegląd Piśmiennictwa. Doktorantka właściwie wykorzystała bogate piśmiennictwo w ilości 220 pozycji wyczerpująco wspierające tezy pracy. Wnioski zaprezentowane w formie opisowej w VIII rozdziale p.t. Podsumowanie i Wnioski odpowiadają na cel postawiony w tym projekcie badawczym. W rozdziale Dyskusja autorka jednoznacznie wykazała się dojrzałością naukową i zdolnością do samodzielnej pracy naukowej. Doskonale umiejscowiła osiągnięte w swoim badaniu wyniki oznaczeń w aktualnym zestawie wiedzy na ich temat w oparciu o doniesienia z literatury medycznej. Cytowane w

pracy doktorskiej pozycje piśmiennictwa obejmują doniesienia polskich i zagranicznych autorów. Zostały właściwie dobrane i w odpowiedni sposób zinterpretowane przez doktorantkę dla potrzeb dyskusji własnych wyników.

Jako recenzent i przedstawiciel nieco innej dziedziny naukowej niż prezentowana przez doktorantkę, dostrzegłem kilka nieznaczących dla ogólnej wartości naukowej rozprawy elementów, które poddaje doktorantce pod rozwagę przed publikowaniem wyników pracy. Jedna z uwag dotyczy interpretacji skali NRS2002. Stosujemy ją w praktyce klinicznej uważając, że wynik 0 wskazuje na właściwy stan odżywienia, 1 – na lekkie niedożywienie, 2 – na średnie niedożywienie, natomiast 3 i więcej na ciężkie niedożywienie. Wg doktorantki pacjenci z punktacją 1 lub 2 to lekko niedożywieni, zaś 3 lub 4 – średnio niedożywieni, a powyżej 5 to ciężko niedożywieni. Nie neguję zasadności podziału na 3 grupy, jak w dokonany dla potrzeb podziału pacjentów w badanym materiale, ale proponuję zawarcie innego komentarza do dokonanego przez doktorantkę podziału, jeżeli ma się on odnosić do oznaczeń wg NRS2002.

Inna uwaga dotyczy traktowania stanu sepsy. Skoro doktorantka w Przeglądzie Piśmiennictwa informuje, że nie powinno się używać określenia „ciężka sepsa" (str. 9) to w późniejszych partiach tekstu pracy, kiedy używa tego określenia, powinna jednak zawrzeć jakiś komentarz, dlaczego to robi pomimo obowiązujących zaleceń (str. 33, wiersz 8 od góry).

Zawarte w pracy na str. 69 określenia z użyciem liczby mnogiej: „albuminy, prealbuminy" proponuję zastąpić wyrażeniami w liczbie pojedynczej, czyli „albumina, prealbumina".

Pozostałe uwagi posiadają charakter czysto edytorski. Wielokrotnie w całym tekście pracy, tylko poza streszczeniem w języku angielskim, zdania zawierają zbyt wiele przecinków, które albo są niepotrzebne, albo umieszczono je niewłaściwym miejscu zdania. Na str. 22 w wierszu 6 od dołu zawarto określenie: „Prokalcytonina wysyntezowana ... „ które może warto zastąpić innym określeniem (... zsyntezowana ... ?). W zdaniu poniżej w wierszu 5 od dołu zamieszczono określenie: „... proteolizowana do ...", które może warto zastąpić wyrażeniem: „ ... ulega proteolizie ..." ? Na stronie 30 wiersz 1 od dołu jest: „... sTREM-1 i PCT ... mogą również znacznie zwiększyć się ...". Może warto zawrzeć określenie: „... poziomy (stężenia) sTREM-1 i PCT mogą również znacznie zwiększyć się (wzrosnąć) ..."? W edycji pozycji w rozdziale Piśmiennictwo większość wieloczłonowych nazw czasopism zapisano skrótem, ale niektóre zamieszczono bez użycia formy skrótowej. Proponuję ujednolicić sposób prezentacji nazw czasopism w tym rozdziale.

Zauważyłem w tekście także inne, drobne uchybienia edytorskie, jak brak kropki, niewłaściwe końcówki, itp., co tylko potwierdza celowość korekty edytorskiej tekstu w przypadku czerpania z niego dla potrzeb publikowania.

W całości pracę oceniam bardzo pozytywnie. Osiągnięte przez doktorantkę nakładem dużej pracy oryginalne wyniki posiadają znaczącą wartość naukową. Bez wątpienia mogą być pomocne w planowaniu dalszych badań nad poszukiwaniem czynników predykcyjnych i

rokowniczych, które usprawnią diagnostykę i leczenie chorych w oddziałach intensywnej terapii. Lepsze rozpoznanie poziomu rozregulowania wrodzonej odpowiedzi układu odpornościowego u chorego w stanie krytycznym, określenie potencjalnego udziału zakażenia w chorobie oraz właściwa ocena stanu odżywienia pacjenta, to niewątpliwie kluczowe elementy w walce o wyleczenie chorego i obniżenie ryzyka zgonu w OIT. Stwierdzam, że rozprawa 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.). Wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr inż. Marty Stelmasiak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku,

Wiesław Kruszelnicki