



UNIWERSYTET
WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE

dr hab. n. med. Elżbieta Jarocka-Cyrta, prof. UWM
Kierownik Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia

WOJEWÓDZKI SPECJALISTYCZNY SZPITAL DZIECIĘCY W OLSZTYNIE
IM. PROF. DR STANISŁAWA POPOWSKIEGO
ul. Żołnierska 18 a, 10-561 Olsztyn tel. 89 539 34 62

Olsztyn, dn. 2 września 2019

***Ocena rozprawy doktorskiej lekarza Macieja Kołodzieja zatytułowanej:
„Modyfikacja mikrobioty przewodu pokarmowego w trakcie antybiotykoterapii
u dzieci”.***

Odkrycie penicyliny przez Aleksandra Fleminga bez wątplenia było jednym z przełomowych momentów w medycynie. Antybiotyki przyczyniły się do znacznego ograniczenia śmiertelności w przebiegu chorób bakteryjnych, jednak z czasem pokazały swoje drugie oblicze. Niekorzystne następstwa antybiotykoterapii obejmują dwa główne zjawiska: selekcję mikroorganizmów opornych na antybiotyki i zaburzenia składu mikroorganizmów zasiedlających organizm.

Mikroorganizmy przewodu pokarmowego odgrywają kluczową rolę w aktywacji układu odpornościowego i rozwoju tolerancji. W ostatnich dwóch dekadach udowodniono, iż mikrobiota jelitowa wywiera istotny wpływ na stan zdrowia, a zakłócenie jej równowagi może być przyczyną różnych schorzeń. Do najważniejszych czynników, które zaburzają skład i aktywność metaboliczną mikrobioty należą: cięcie cesarskie, sztuczne karmienie niemowlęcia, dieta, leki w tym antybiotyki. Następstwem dysbiozy związanej z antybiotykoterapią może być ostra biegunka, ale także zwiększone ryzyko wystąpienia chorób przewlekłych w późniejszych latach życia. Należy zaznaczyć, że większość populacji jest poddana działaniu przynajmniej jednego z czynników mających negatywny wpływ na mikrobiotę, dlatego bardzo ważne jest poznanie sposobów zapobiegania bądź odwracania następstw dysbiozy. Modyfikowanie mikrobioty może odbywać się między innymi poprzez stosowanie wybranych szczepów probiotycznych. Zapobieganie biegunce związanej z antybiotykoterapią, jest jednym z najczęstszych wskazań do stosowania probiotyków. W praktyce klinicznej powszechnym błędem jest przypisywanie korzystnych efektów wszystkim probiotykom, a nie konkretnym szczepom. Dlatego niezbędne jest prowadzenie



WYDZIAŁ LEKARSKI/COLLEGIUM MEDICUM
UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE
KLINIKA PEDIATRII, GASTROENTEROLOGII I ŻYWIENIA

wiarygodnych metodologicznie badań, których wyniki pozwalają na sformułowanie i rozpowszechnianie zaleceń racjonalnego stosowania probiotyków w wybranych sytuacjach klinicznych.

Jedynę dotychczas przeprowadzone badanie dotyczące skuteczności *Lactobacillus reuterii* DSM 17938 w zapobieganiu biegunce związanej z antybiotykoterapią budzi zastrzeżenia ze względu na zaskakująco niski odsetek pacjentów ze stwierdzoną biegunką. Podejrzanie odległych w czasie skutków antybiotykoterapii, ze względu na ogromne znaczenie społeczne tego problemu, wymaga weryfikacji w przypadku wielu chorób.

W związku z powyższym wybór tematu badań prowadzonych przez lekarza Macieja Kołodzieja uważam za szczególnie trafny. Rozprawa doktorska jest wynikiem wieloletniego zainteresowania Doktoranta problematyką mikrobioty jelitowej, możliwościami i skutkami jej modyfikacji. Podstawą jest świetne przygotowanie merytoryczne do zaplanowanych badań, o czym możemy wnioskować śledząc dotychczasowy dorobek naukowy Doktoranta. Na podkreślenie zasługuje fakt, że praca realizowana była w wiodącym w Polsce ośrodku zajmującym się od lat różnymi aspektami mikrobioty jelitowej, kierowanym przez prof. Hannę Szajewską.

Ocena formalna

Rozprawa doktorska lekarza Piotra Kołodzieja ma spójną formę trzech artykułów: 1/protokołu badania, 2/pracy oryginalnej, 3/przeglądu systematycznego ogłoszonych w międzynarodowych recenzowanych czasopismach.

Rozprawa doktorska ma klasyczny układ prac doktorskich prezentowanych w formie cyklu publikacji, liczy z piśmiennictwem i załącznikami 84 strony. Składa się ze spisu treści, wstępu, przedstawienia założeń i celu pracy, kopii publikacji wchodzących w skład rozpraw, podsumowania najważniejszych wyników.

Pracę uzupełniają: nazwa i numer projektu badawczego w ramach którego wykonano badania oceniające skuteczność *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 w zapobieganiu biegunce związanej z antybiotykoterapią, spis treści i użytych w tekście skrótów, streszczenie pracy w języku polskim i angielskim, a także umieszczona na końcu zgoda Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym na prowadzenie zadania badawczego. Oświadczenie współautorów publikacji zostało zastąpione oświadczeniem promotora pracy, profesor Hanny Szajewskiej, o znaczącym wkładzie merytorycznym lekarza Macieja Kołodzieja na wszystkich etapach powstawania publikacji stanowiących rozprawę doktorską.

Rozprawa jest napisana poprawnym językiem, z zachowaniem proporcji pomiędzy poszczególnymi częściami rozprawy, szata graficzna jest niezwykle staranna, pod względem edytorskim zasługuje na najwyższą ocenę.

Ocena merytoryczna

W recenzowanej pracy doktorskiej zawarto podstawy teoretyczne omawianych zagadnień badawczych, cele, charakterystykę metod badawczych oraz omówienie uzyskanych wyników z podkreśleniem ich praktycznego znaczenia.

Uzyskane wyniki zostały opisane w przykładowie opracowanych publikacjach składających się na rozprawę:

1. Kołodziej M, Szajewska H. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: protocol of a randomised controlled trial. *BMJ Open*. 2017 Jan 5;7(1): e013928. doi: 10.1136/bmjopen-2016-013928.
2. Kołodziej M, Szajewska H. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized clinical trial. *Clin Microbiol Infect*. 2019 Jun;25(6):699-704. doi: 10.1016/j.cmi.2018.08.017.
3. Kołodziej M, Patro-Gołąb B, Gieruszczak-Białek D, Skórka A, Pieścik-Lech M, Baron R, Szajewska H; SAWANTI Working Group. Association between early life (prenatal and postnatal) antibiotic administration and coeliac disease: a systematic review. *Arch Dis Child*. 2019 May 25. pii: archdischild-2019-317174. doi: 10.1136/archdischild-2019-317174.

Należy podkreślić wysoką punktację współczynnika oddziaływania IF = 12 publikacji.

Wstęp stanowi syntetyczne przedstawienie zagadnień ściśle związanych z zakresem realizowanych badań, opartych na prawidłowo dobranej literaturze przedmiotu. Cytowane piśmiennictwo zawiera 222 pozycje, są to prace oryginalne, poglądowe i metaanalizy, w większości pochodzące z ostatnich 10 lat. Autor przedstawia prawidłowy skład mikrobioty jelitowej, czynniki wpływające na jej równowagę oraz przyczyny i następstwa dysbiozy, w tym ryzyko wystąpienia chorób ostrych i przewlekłych oraz możliwości modyfikacji mikrobioty. W następnych podrozdziałach wstępu Doktorant omawia probiotyki, mechanizm ich działania,

kliniczne wskazania do zastosowania u dzieci z uwzględnieniem szczepu *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. Wnikliwie analizuje obecną wiedzę dotyczącą niepożądanych następstw antybiotykoterapii, w tym biegunki związanej z antybiotykoterapią oraz ryzyka wystąpienia chorób przewlekłych. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż Autor odwołuje się we wstępie także do prac dotyczących omawianych zagadnień, których jest współautorem.

Wstęp stwarza podstawę teoretyczną i uzasadnienie podjętych badań, których celem było:

- 1/ wykazanie w wiarygodnym metodologicznie badaniu przesłanek do stosowania *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 w zapobieganiu biegunce związanej z antybiotykoterapią u dzieci
- 2/ ocena wpływu antybiotykoterapii na ryzyko chorób przewlekłych na przykładzie celiakii.

Cele pracy są jasno zdefiniowane, problemy aktualne i ważne z punktu widzenia potencjalnej aplikacji klinicznej.

Aby zrealizować cel pierwszy Doktorant szczegółowo zaplanował prospektywne dwuośrodkowe badanie z randomizacją, metodą podwójnie ślepej próby, obejmujące dzieci poniżej 18 roku życia. Taki model badania uważany jest za najbardziej odpowiedni do oceny skuteczności i bezpieczeństwa różnych metod leczenia i profilaktyki. Doktorant przemyślał każdy z elementów interwencji, zdefiniował punkty końcowe, scharakteryzował kryteria włączenia i wykluczenia, sposób randomizacji i zaślepienia, oszacował niezbędną liczbę pacjentów. Protokół badania został opublikowany i włączony do prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Protokół może być wzorem prawidłowo przygotowanego badania dla młodych naukowców.

Przeprowadzone zgodnie z założeniami badanie pozwoliło na uzyskanie wiarygodnych danych i sformułowanie wniosków, które zostały opublikowane w formie pracy oryginalnej, wchodzącej w skład rozprawy. Do badania włączono 250 dzieci, u których zastosowano antybiotykoterapię. W grupie eksperymentalnej pacjenci otrzymywali *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 w dawce 2×10^8 CFU, w grupie kontrolnej identycznie wyglądające placebo. Czas obserwacji wynosił 1 tydzień od zakończeniu leczenia. Badanie nie wykazało skuteczności *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 stosowanego jednocześnie z antybiotykoterapią w zapobieganiu biegunce związanej z antybiotykoterapią u dzieci. Uzyskane przez Doktoranta wyniki mają

znaczenie praktyczne wykazując brak celowości stosowania *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 w celu zapobiegania temu powikłaniu antybiotykoterapii. Ma to szczególne znaczenie wobec faktu, iż w Polsce są dostępne probiotyki o udokumentowanej skuteczności w zapobieganiu bieguncie związanej z antybiotykoterapią u dzieci.

W drugiej części rozprawy doktorskiej Doktorant analizuje wpływ antybiotykoterapii stosowanej w okresie przed- i poporodowym na ryzyko występowania u dzieci jednej z chorób przewlekłych - celiakii. Autor podnosi, iż jest to pierwsza analiza dotycząca tego problemu na świecie.

Podstawą analizy jest przegląd systematyczny dotychczas opublikowanych 6 badań obserwacyjnych. Uzyskane wyniki zostały omówione w trzeciej pracy rozprawy doktorskiej. Bardzo istotne jest włącznie do rozprawy oprócz publikacji, także suplementu zawierającego szczegółowy opis strategii przeszukiwania baz danych, charakterystykę publikacji wykluczonych z analizy, listę czynników zakłócających, definicji ekspozycji na antybiotyki, metody zbierania danych i rozpoznania w publikacjach włączonych do analizy. Należy podkreślić, że przedstawione żmudne dociekania i wieloaspektowa interpretacja wyników wymagały dużego nakładu pracy i umiejętności działania w zespole.

Na podstawie przeprowadzonej analizy nie wykazano związku pomiędzy stosowaniem antybiotyków w okresie przedporodowym a wyższym ryzykiem rozwoju celiakii u dzieci, natomiast związek między ekspozycją na antybiotyk po urodzeniu a ryzykiem autoimmunizacji celiakalnej pozostaje niepewny. Wartość pracy podnosi szczegółowe omówienie czynników mogących wpływać na uzyskane wyniki.

W obu pracach, zarówno we wstępie, jak i w dyskusji, Autor przytacza najnowsze, bardzo trafnie dobrane pozycje piśmiennictwa. Artykuły zawierają tabele i ryciny ułatwiające zrozumienie omawianych zagadnień i uzyskanych wyników. Wartość publikacji podnosi prawidłowy dobór metod statystycznych. Dyskusje w obu publikacjach napisane są logicznie i merytorycznie poprawnie. W każdej z tych publikacji Doktorant konfrontuje uzyskane przez siebie wyniki z danymi z piśmiennictwa, przedstawia w sposób wyczerpujący ograniczenia prowadzonych badań i analiz, co szczególnie świadczy o jego rozważnym i krytycznym podejściu do uzyskanych wyników oraz o jego dojrzałości naukowej.

Po lekturze pracy nasuwają się pewne uwagi.

1. Tytuł pracy "Modyfikacja mikrobioty przewodu pokarmowego w trakcie antybiotykoterapii u dzieci" w opinii recenzenta nie oddaje precyzyjnie tematyki badań prowadzonych przez Autora. W pierwszym badaniu opierając się na danych z piśmiennictwa wskazujących na zaburzenia mikrobioty jelitowej pod wpływem antybiotykoterapii, podjęto próbę modyfikacji tej mikrobioty poprzez zastosowanie probiotyku. W drugim badaniu prawdopodobnie Autor założył, że antybiotyki modyfikują mikrobiotę, a następstwem tego może być zwiększona zapadalność na choroby przewlekłe. Oceniał skutek modyfikacji, nie wykazując, że taka modyfikacja miała miejsce.
2. Zgodnie z definicją biegunka związana z antybiotykoterapią może wystąpić kilka miesięcy po zakończeniu leczenia. W badaniu dotyczącym skuteczności *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 w zapobieganiu biegunce związanej z antybiotykoterapią obserwacje prowadzone były przez 1 tydzień po zakończeniu leczenia. W dyskusji w pracy Autor odnosząc się do ograniczeń badania wymienia między innymi krótki okres obserwacji, jednak nie podaje uzasadnienia takiego wyboru. Czy decydowały o tym wyłącznie względy organizacyjne czy inne obserwacji autora?
3. Jednym z celów badań Autora była "Ocena wpływu antybiotykoterapii na ryzyko chorób przewlekłych (na przykładzie celiakii)". W opinii recenzenta takie sformułowanie celu jest zbyt ogólne, ponieważ analiza dotyczyła wyłącznie choroby trzewnej. Przeprowadzone przez Autora badania nie pozwalają na wyciągnięcie wniosków dotyczących wpływu antybiotykoterapii na ryzyko chorób przewlekłych, a jedynie na ryzyko choroby trzewnej, jednej z chorób przewlekłych. Poparciem słuszności tych zastrzeżeń są wnioski Autora, odnoszące się do choroby trzewnej, a nie chorób przewlekłych.
4. Drobny błąd w cytowaniu piśmiennictwa - w tabeli 4, pozycja piśmiennictwa 149 nie dotyczy skuteczności *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, we wskazanej jednostce chorobowej.

Poczynione z obowiązku recenzenta uwagi krytyczne nie umniejszają wartości merytorycznej przedstawionej mi do recenzji pracy, stanowią natomiast podstawę do dyskusji podczas publicznej obrony.


Podsumowanie

Rozprawę doktorską lekarza Macieja Kołodzieja oceniam bardzo wysoko. Na szczególne uznanie zasługuje metodologia oraz walory aplikacyjne uzyskanych wyników. Doktorant wykazał się umiejętnością planowania badań i ich realizacji, oraz rozwiązywania problemów naukowych. Rozprawa doktorska stanowi cenne źródło informacji, a jednocześnie wskazuje nowe aspekty, które mogą być ważnym kierunkiem badawczym Doktoranta w przyszłości.

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 2019 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz 1669 z późn.zm).

W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lekarza Macieja Kołodzieja do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału o wyróżnienie niniejszej pracy.



Dr hab. n. med. Elżbieta Jarocka-Cyrta