

dr hab. n. med. Bożena Jarosz

Lublin, 2020.02.05

Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurochirurgii Dziecięcej

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

ul. Dr K.Jaczeńskiego 8

20-954 Lublin

tel.kom +48 603 270 736

e-mail: bozenajarosz@poczta.onet.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. med. Pawła GOGOLA pt.

„ROLA BIOPSI SKÓRNO-MIĘŚNIOWEJ W DIAGNOSTYCE CHORÓB MAŁYCH NACZYŃ MÓZGU”

napisanej pod kierunkiem

dr hab. n. med. Doroty Dziewulskiej

Choroby małych naczyń (ChMN) zazwyczaj są angiopatiami uogólnionymi, ale w ich przebiegu zwykle dominują objawy uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Choroby te zajmują drugie miejsce wśród przyczyn zespołów otępiennych i stanowią przyczynę 25% udarów mózgu, zwłaszcza przypadków dotyczących osób młodych i tych o nieznannej etiologii. Częstość występowania ChMN rośnie w związku ze starzeniem się populacji.

Diagnostyka ChMN wciąż stanowi duży problem dla klinicystów, mimo intensywnego rozwoju nieinwazyjnych technik diagnostycznych w ostatnim czasie.

Tak więc lekarz medycyny Paweł Gogol w swojej rozprawie doktorskiej podjął się niezwykle aktualnego i ważnego tematu, stanowiącego istotny aspekt w poszukiwaniu najskuteczniejszych narzędzi diagnostycznych w rozpoznawaniu tej grupy chorób. Biopsja skóry i mięśnia może okazać się właśnie tą ważną, a niekiedy decydującą metodą diagnostyczną.

OCENA STRUKTURY ROZPRAWY

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lekarza medycyny Pawła Gogoła posiada formę bardzo starannego, jednostronnego wydruku komputerowego w twardej oprawie, liczącego 102 strony. Ogólna struktura rozprawy jest typowa dla prac badawczych prowadzonych w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.

Strona 1 zawiera tytuł rozprawy doktorskiej, strona 2 – słowa kluczowe, a strona 3 – podziękowania.

Na stronach 4-6 zamieszczony został „Spis treści”, bardzo precyzyjny, podzielony na 13 głównych, nieponumerowanych części, wyróżnionych w spisie wytłuszczoną czcionką. „Wstęp”, „Materiał i metoda”, „Wyniki” oraz „Dyskusja” – posiadają rozdziały i podrozdziały ponumerowane w układzie dziesiętnym. Wszystkie części rozprawy, umieszczone w „Spisie treści” mają odnośniki do numerów stron, co znacznie ułatwia korzystanie z wydruku rozprawy.

Strona 7 zawiera „Spis rycin” ponumerowanych od 1 do 11, wraz z ich tytułami i odnośnikami do stron rozprawy.

Strona 8 i 9 zawiera alfabetyczny wykaz 46 skrótów – głównie terminów anglojęzycznych z tłumaczeniem na język polski. Skróty dotyczą głównie dziedzicznych chorób naczyniowych ośrodkowego układu nerwowego, nazw przeciwciał, genów, stosowanych metod badawczych, a układ alfabetyczny znacznie ułatwia ich wyszukiwanie.

Strony 10-12 – zawierają zwięzłe streszczenie w języku polskim.

Strony 13-15 – zawierają zwięzłe streszczenie w języku angielskim

Strony 16-52 – zawierają „Wstęp” (razem 37 stron, co stanowi ok. 33% objętości całej rozprawy). „Wstęp” został podzielony na 4 główne rozdziały, z których pierwszy, dotyczący chorób małych naczyń, Doktorant podzielił na cały szereg logicznie powiązanych podrozdziałów. Uzupełnieniem tekstu „Wstępu” są 4 estetyczne, przejrzyste, prawidłowo opisane i ponumerowane tabele oraz 3 ryciny, przedstawiające szczegóły histologiczne skóry i mięśnia szkieletowego, które są niezmiernie istotne podczas pobierania i późniejszej oceny tego materiału. Zastosowane we „Wstępie” przez Doktoranta uzupełnienia, zwiększają przejrzystość oraz rozumienie fragmentów tekstu, do których się odnoszą.

Na stronie 53 Doktorant umieścił „Założenia i cele pracy” w trzech punktach, z czego punkt drugi został rozbity na kolejne trzy podpunkty.

Strony 54-66 zawierają „Materiał i metodę” (13 stron; ok. 13% rozprawy), z podziałem na podrozdziały oraz uzupełnieniem w postaci 3 tabel i 5 rycin, których numeracja jest kontynuacją tychże ze „Wstępu”.

Strony 67-71 zawierają „Wyniki” badań (5 stron; ok. 5% rozprawy), które zostały zobrazowane za pomocą 3 rycin.

Strony 72-78 zawierają „Dyskusję” (7 stron; ok. 7% rozprawy).

Strona 79 zawiera „Wnioski” w 5 punktach.

Strony 80-100 zawierają „Piśmiennictwo” (21 stron, ok. 21% rozprawy), obejmujące bibliografię załącznikową, złożoną z 212 pozycji, ponumerowanych i uporządkowanych według kolejności cytowania w tekście. Wykaz ten zawiera 33 pozycje z okresu od 1955 roku do 1999, 120 pozycji z okresu 2000-2009, najwięcej – 92 pozycje z lat 2010-2019 oraz 4 pozycje ze stron internetowych.

Strona 101, stanowi „Załącznik 1” – Zgoda Komisji Bioetycznej.

Strona 102, zawiera „Załącznik 2” w postaci formularza zgody na wykonanie biopsji, stosowanego w Katedrze i Klinice Neurologii WUM.

Podsumowując ocenę struktury rozprawy stwierdzam, że układ poszczególnych rozdziałów jest właściwy i zgodny z zasadami redagowania prac naukowych. Treść poszczególnych rozdziałów i podrozdziałów jest zgodna z ich tytułami, a treść kolejnych rozdziałów wynika z treści rozdziałów poprzednich. Drobne nieprawidłowości, których się dopatrzyłam przedstawiam poniżej.

Słowa kluczowe w języku polskim i angielskim, umieszczone na odwrocie strony tytułowej, proponowałabym umieścić pod streszczeniem pracy.

We „Wstępie” Doktorant zamieścił zdjęcia obrazujące materiały, narzędzia i miejsce pobrania wycinków, a w „Wynikach” - zdjęcia obrazów mikroskopowych (w mikroskopie świetlnym i elektronowym transmisyjnym), które nazwał Rycinami (nr 5,6,7,8,9,11). Należałoby nazwać je Fotografiami (z oddzielną numeracją), ryciny bowiem są uproszczoną prezentacją graficzną treści przedstawionych w tekście rozprawy i zupełnie inna jest technika wykonania ich w stosunku do zdjęć.

Pozycje internetowe w „Piśmiennictwie” (pozycja nr 124, 197, 210 oraz 211) zawierają jedynie ścieżkę dostępu, oprócz której powinny również zawierać pełne dane bibliograficzne oraz datę cytowania.

OCENA POPRAWNOŚCI METODOLOGICZNEJ

Ocena przedstawienia dotychczasowego stanu wiedzy badanego problemu

„Wstęp” jest najbardziej rozbudowaną częścią rozprawy. Doktorant z dużą znajomością przedmiotu i bardzo wyczerpująco omawia tę jakże niejednorodną grupę chorób małych naczyń mózgu (ChMN), rozpoczynając od definicji, poprzez dane epidemiologiczne, klasyfikację i ogólną charakterystykę objawów klinicznych, z których najczęściej występuje udar mózgu (głównie niedokrwienny, ale również i krwotoczny) bądź zaburzenia funkcji poznawczych / otępienie. Doktorant opisuje typowe zespoły neurologiczne wskazujące na ChMN i charakterystyczną sekwencję, którą można dostrzec w przebiegu choroby, niezależnie od przyczyny. Po krótkim przedstawieniu do tej pory opisanych w literaturze ChMN, w tym postaci dziedzicznych (ze szczególnym zwróceniem uwagi na CADASIL - mózgową autosomalną dominującą arteriopatię z zawałami podkorowymi i leukoencefalopatią), Doktorant przechodzi do metod diagnostycznych, rozpoczynających się od rzetelnie zebranego wywiadu lekarskiego (w tym rodzinnego), co ułatwi dalszą diagnostykę i nada jej prawidłowy kierunek. W badaniach laboratoryjnych, Doktorant przedstawia m.in. typy przeciwciał, które należy wziąć pod uwagę w zależności od rodzaju podejrzanej choroby. W badaniach obrazowych istotna jest tomografia komputerowa pozwalająca na wstępną ocenę, a następnie rezonans magnetyczny, za pomocą którego można ostatecznie doprecyzować rozpoznanie. Doktorant zaprezentował wytyczne z 2013 roku, dotyczące terminologii stosowanej w opisie zmian widocznych w rezonansie magnetycznym w ChMN. Z dalszych metod diagnostycznych, tym razem już inwazyjnych, Doktorant omawia biopsję mięśnia szkieletowego, nerwu, skóry oraz mózgu. W przypadku ChMN, ze względu na układowy charakter zmian, wykonuje się biopsję skóry, natomiast biopsję mięśni – w przypadku podejrzenia miopatii. Materiał oceniany jest w mikroskopie świetlnym (po wykonaniu zalecanych barwień histochemicznych) oraz mikroskopie elektronowym transmisyjnym.

Kończąc „Wstęp”, Doktorant zaznajamia czytelnika ze szczegółami histologicznymi budowy skóry i mięśni szkieletowych.

Podsumowując prezentację dotychczasowego stanu wiedzy badanego problemu, pragnę jedynie zwrócić uwagę na drobną nieścisłość, mianowicie przedstawiając budowę histologiczną skóry wraz z jej unaczynieniem, Doktorant wykorzystał informacje

z podręcznika „Anatomii człowieka” z 2007 roku, które nie są zgodne z aktualnym mianownictwem histologicznym, uwzględniającym w skórze właściwej skóry obecność warstwy brodawkowej i siateczkowej oraz spłotu naczyniowego powierzchownego i głębokiego. Struktury te są dobrze znane i bardzo ważne dla patomorfologów w codziennej diagnostyce histopatologicznej, ponieważ w odniesieniu do nich określają np. głębokość naciekania czerniaka złośliwego według skali Clarka.

Ocena celów pracy i hipotez badawczych

„Założenia i cele” Doktorant sformułował w trzech punktach, które nie są typowymi hipotezami i mają charakter głównie jakościowy. Charakter ilościowy występuje jedynie w punkcie nr 1 i dotyczy częstości wykrytych mikroangiopatii w zgromadzonym materiale. Pozostałe jakościowe cele dotyczą rodzaju stwierdzonych mikroangiopatii oraz etapów procedury biopsji skóry i mięśni od wskazań, poprzez wykonanie i wreszcie porównanie wartości diagnostycznej pomiędzy biopsją skóry a biopsją mięśni w ChMN.

Przedstawione przez Doktoranta cele mają przede wszystkim duże znaczenie praktyczne w tym jakże trudnym procesie diagnostyki pacjentów z podejrzeniem ChMN.

Ocena opisu materiału i metod badań

Doktorant przeprowadził badania retrospektywne na materiale 49 pacjentów z podejrzeniem ChMN, przebywających w Klinice Neurologii WUM w latach 2003-2018. Za grupę kontrolną przyjął materiał 51 pacjentów z podejrzeniem pierwotnej choroby mięśni. Bardzo precyzyjnie, w postaci przejrzystych tabel, przedstawił Doktorant kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów do obu grup.

Przedstawił analizę pacjentów grupy badanej pod kątem podejrzenia ChMN w rodzinie, występowania chorób będącym znanym czynnikiem ryzyka choroby naczyniowej mózgu oraz obecności zespołów klinicznych lub chorób, które mogą wystąpić w przebiegu ChMN ośrodkowego układu nerwowego.

W grupie kontrolnej również przeprowadził analizę co do występowania chorób będącym znanym czynnikiem ryzyka choroby naczyniowej mózgu, przebycia udaru mózgu, migrenowego bólu głowy, zespołu otępiennego. W grupie tych pacjentów stwierdził ponadto przypadki zaburzeń depresyjnych oraz pojedynczy przypadek padaczki.

Wśród zastosowanych metod badań Doktorant wymienia badanie lekarskie, jako kluczowe w początkowym etapie diagnozowania pacjenta, z którego dane Doktorant uzyskał

z dokumentacji medycznej, ze szczególnym zwróceniem uwagi na odchylenia w badaniu neurologicznym.

Kolejny etap, to analiza wyników badania rezonansem magnetycznym mózgowia, ze zwróceniem uwagi na odpowiednie sformułowania zmian wskazujące na ChMN.

Jako ostatni etap w procesie diagnostyki Doktorant opisuje biopsję skóry i mięśni, poprzedzoną podstawowym badaniem krwi, wykonaniem szczepień przeciwko WZW typu B, omówieniem przebiegu badania z pacjentem i/lub jego opiekunem i podpisaniem zgody na badanie oraz wyborem optymalnego miejsca biopsji z uwzględnieniem różnych czynników.

Następnie Doktorant precyzyjnie opisuje technikę pobrania materiału i opracowanie materiału do badania przy wykorzystaniu mikroskopu świetlnego oraz mikroskopu elektronowego transmisyjnego.

Analiza statystyczna, zastosowana przez Doktoranta, jest bardzo uboga, w związku z tym, że Doktorant nie przedstawił hipotez, które byłyby weryfikowane za pomocą odpowiednich testów statystycznych lecz niżej opisane cele głównie jakościowe. Doktorant zastosował jedynie statystykę opisową, przedstawiając średnią i zakres wartości.

Podsumowując ocenę opisu materiału i metod badań, zwracam uwagę na drobne niedopatrzenie Doktoranta w prezentacji statystyki opisowej zarówno grupy badanej, jak i kontrolnej, mianowicie pominięcie mężczyzn. Doktorant przedstawił jedynie bezwzględną liczbę i odsetek kobiet w badanych grupach, pomijając mężczyzn, których natomiast uwzględnił w streszczeniu pracy.

Doktorant w opisie grup podaje średnią i zakres wieku dla całej grupy, pomija natomiast ocenę średniej i zakresu wieku osobno dla kobiet i mężczyzn.

Grupa badana oraz grupa kontrolna różnią się pod względem struktury płci. W grupie badanej bowiem kobiety stanowią 69,4% całej grupy, a w grupie kontrolnej – 51%.

Opisując metodę przygotowania skrawków do dalszych badań, Doktorant napisał, że fragmenty tkankowe utrwalane są w 4% formalinie, co jest błędem, z drugiej strony - nie tak rzadko spotykanym (w literaturze / podręcznikach). Utrwalaczem w histopatologii jest zbuforowana 10% formalina, którą otrzymuje się poprzez zmieszanie 1 części (jednostki objętości) 40% formaldehydu (czyli aldehydu mrówkowego, który w takiej formie występuje w sprzedaży) oraz 9 części wody, tak więc będzie to 4% roztwór ale formaldehydu, a nie otrzymanej po zmieszaniu 10% formaliny.

Ocena prezentacji wyników

Wyniki Doktorant przedstawił zgodnie z postawionymi celami badań, tak więc w pierwszej kolejności opisał zmiany w naczyniach w grupie badanej, widoczne pod mikroskopem świetlnym i elektronowym transmisyjnym, które zobrazował ponadto bardzo dobrej jakości zdjęciami. Rodzaje wszystkich zmian histopatologicznych wśród pacjentów badanej grupy przedstawił na rycinie w postaci wykresu słupkowego. W jednym przypadku, dotyczącym pacjenta z typowym dla ChMN obrazem radiologicznym, obciążającym wywiadem rodzinnym, zaburzeniami psychiatrycznymi i ujemnym badaniem genetycznym w kierunku CADASIL-u, dopiero w materiale biopsyjnym wykazano obecność złogów GOM w ścianie małej tętnicy skóry, co umożliwiło rozpoznanie choroby – CADASIL.

W grupie kontrolnej, tylko u jednego pacjenta stwierdzono w materiale biopsyjnym zapalenie naczyń.

W kolejnym punkcie, dotyczącym optymalizacji procedury wykonania biopsji skórno-mięśniowej, Doktorant przeprowadził analizę powikłań wczesnych po przeprowadzonej biopsji w obu grupach pacjentów. Analizowana dokumentacja nie zawierała danych na temat powikłań późnych, przyczynę czego Doktorant dokładnie przeanalizował w „Dyskusji”.

Porównując wartość diagnostyczną biopsji skóry i mięśnia szkieletowego u pacjentów z ChMN, Doktorant stwierdził te same zmiany w naczyniach skóry i mięśni w badanych próbkach, jedynie w dwóch przypadkach zapalenia naczyń, większe nasilenie zmian występowało w naczyniach skóry. W żadnym z analizowanych przypadków grupy badanej nie było konieczności powtórnego wykonania biopsji.

Próbę sformułowania wskazań do biopsji łączonej (skórno-mięśniowej) i do powtórnego wykonania biopsji w ChMN Doktorant przeniósł do „Dyskusji”.

Ocena przeprowadzenia dyskusji

Dyskusję Doktorant rozpoczyna od nawiązania do wyników swoich badań, w których badanie biopsyjne potwierdziło ChMN u 24 pacjentów spośród 49. Problem diagnostyczny, jeżeli chodzi o badania mikroskopowe w tej grupie chorób, polega na tym, że z wyjątkiem CADASIL-u, większość ChMN nie powoduje powstania w ścianie naczyń zmian patognomicznych. W takich przypadkach badanie histopatologiczne ukierunkowuje diagnostykę, ale ostatecznie jej nie rozstrzyga w postaci precyzyjnego rozpoznania. Doktorant dokonuje przeglądu ubogiego jak do tej pory piśmiennictwa na ten temat, podkreślając duże problemy diagnostyczne nie tylko w kontekście całej grupy ChMN, ale również w kontekście różnicowania poszczególnych jednostek chorobowych w tej grupie chorób.

Jedynie mikroangiopatia uwarunkowana genetycznie - CADASIL, posiada jednoznaczne zmiany ultrastrukturalne, pozwalające na ich podstawie rozpoznać tę chorobę, przy niestety istniejącej możliwości fałszywie ujemnego wyniku wcześniej wykonanych badań genetycznych. W takich przypadkach prawidłowa kwalifikacja do biopsji decyduje o sukcesie diagnostycznym, a zarazem ocenie stopnia zaawansowania zmian w naczyniach.

W kolejnych punktach „Dyskusji” Doktorant potwierdza zasadność biopsji, jako często decydującego narzędzia diagnostycznego w tej grupie chorób, podkreślając odpowiednią głębokość cięcia, w celu uzyskania reprezentatywnego materiału do badań mikroskopowych. Stąd też niezmiernie cenne jest dokonanie przez Doktoranta, na podstawie danych z literatury i danych z dokumentacji badanych pacjentów, optymalizacji procedury wykonania biopsji skórno-mięśniowej, z oceną bezpieczeństwa i powikłań oraz porównaniem wartości diagnostycznych materiału pobranego drogą biopsji skóry i mięśnia szkieletowego w ChMN. Doktorant nie stwierdził przewagi żadnej z tych metod, ponieważ są to choroby systemowe, z dominacją objawów ze strony OUN. Istotne jest, aby pobrany materiał zawierał wszystkie warstwy skóry, co podkreślił Doktorant, określając warunki biopsji zwiększających prawdopodobieństwo uzyskania materiału o wysokiej wartości diagnostycznej. Doktorant na koniec sformułował wskazania do biopsji łączonej – skórno-mięśniowej i do powtórnego wykonania biopsji w ChMN. Wszystkie te informacje są niezmiernie cenne z praktycznego punktu widzenia, gdyż podnoszą skuteczność diagnostyki w ChMN.

Ocena wniosków końcowych

Wnioski, które Doktorant przedstawił w 5 punktach, podobnie jak przedstawione cele i ich realizacja w pracy doktorskiej, mają głównie charakter jakościowy. Podkreślają największe znaczenie w diagnostyce ChMN biopsji skórno-mięśniowej, która zapewni obecność w badanym materiale najwartościowszych do oceny naczyń z głębokich warstw skóry, co jest ważne również z powodu występowania chorób, mogących imitować ChMN.

Wniosek 4 zawiera pewną oczywistość, dotyczącą bezpieczeństwa i skuteczności biopsji, jeśli będzie wykonywał ją wykwalifikowany i doświadczony personel. Doktorant nie badał tych aspektów, poprzez porównanie wartości diagnostycznej materiału pobieranego przez niewykwalifikowany/niedoświadczony i wykwalifikowany/doświadczony personel.

PODSUMOWANIE RECENZJI I WNIOSEK

Podsumowując stwierdzam, że całość rozprawy doktorskiej lek. med. Pawła Gogola zatytułowanej „Rola biopsji skórno-mięśniowej w diagnostyce chorób małych naczyń mózgu”, napisanej pod kierunkiem promotora dr hab. n. med. Doroty Dziewulskiej, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu praktyczno-naukowego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne, wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w tej dziedzinie oraz umiejętności do prowadzenia prac naukowych.

W związku z tym, że przedstawiona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach 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 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz.1669 z późn.zm.), wnioskuję do **Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego** o dopuszczenie **lek. med. Pawła Gogola** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med. Bożena Jarosz

