

**Recenzja rozprawy doktorskiej
na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie
nauki medyczne
lek Mateusza Puchały
pt. „Porównanie obrazu klinicznego chorych na ANCA-zależne zapalenia
małych naczyń wymagających mniej lub bardziej agresywnego leczenia
immunosupresyjnego”**

Zapalenia małych naczyń związane z przeciwciałami ANCA (tzw. ANCA-zależne zapalenia naczyń) to grupa rzadkich chorób o bardzo zróżnicowanym przebiegu klinicznym oraz nie do końca poznanej patogenecie. Do ANCA-zależnych zapaleń małych naczyń zalicza się: ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń (ang. granulomatosis with polyangiitis, GPA), eozynofilową ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń (ang. eosinophilic granulomatosis with polyangiitis, EGPA) oraz mikroskopowe zapalenie naczyń (ang. microscopic polyangiitis, MPA). Cechą wspólną tych schorzeń jest występowanie zapalenia w obrębie małych naczyń krwionośnych oraz współistnienie autoprzeciwciał skierowanych przeciwko antygenom cytoplazmy neutrofili (ang. anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA). Z kolei obraz kliniczny, zakres choroby (postać miejscowa lub układowa), profil zajęcia narządowego oraz odpowiedź na leczenie są w tej grupie chorób bardzo różne i w znacznej mierze trudne do przewidzenia. Lepsze poznanie przebiegu naturalnego tych schorzeń, a zwłaszcza – identyfikacja czynników pozwalających na przewidzenie przebiegu choroby i/lub odpowiedzi na leczenie – mogą znacznie poprawić skuteczność leczenia w tej grupie chorych.

Praca doktorska lek Mateusza Puchały, której celem jest porównanie obrazu klinicznego chorych na ANCA-zależne zapalenia małych naczyń wymagających mniej lub bardziej agresywnego leczenia immunosupresyjnego, stanowi właśnie taką próbę identyfikacji czynników rokowniczych, które mogą być pomocne w podejmowaniu decyzji klinicznych. Jest to zatem praca o dużym znaczeniu poznawczym oraz istotnych implikacjach praktycznych.

Praca doktorska lek. Mateusza Puchały liczy 137 stron i ma układ typowy - w skład pracy wchodzi: wstęp, cele pracy, opis metod, wyników, dyskusja, wnioski oraz spis piśmiennictwa. Ponadto na początku pracy umieszczone zostały spisy tabel i rycin, wykaz użytych skrótów oraz streszczenie w wersji polskiej i angielskiej.

We wstępie Doktorant przedstawił podział i terminologię zapaleń naczyń, aktualne poglądy na patogenezę, charakterystykę kliniczną oraz zasady rozpoznania poszczególnych postaci ANCA-zależnych zapaleń małych naczyń: GPA, EGPA i MPA. W kolejnych akapitach wstępu zostały omówione przeciwciała ANCA z uwzględnieniem ich znaczenia w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu choroby oraz metod ich wykrywania. Na końcu przedstawiono leczenie ANCA-zależnych zapaleń małych naczyń, z podziałem na: leczenie indukujące remisję, leczenie podtrzymujące remisję oraz nowe terapie w leczeniu zapaleń naczyń. Wszystkie informacje zawarte we wstępie zostały przedstawione w sposób przejrzysty i logiczny oraz poparte odpowiednimi pozycjami piśmiennictwa, a całość stanowi doskonałe wprowadzenie do tematu pracy.

Cel pracy został sformułowany w sposób klarowny. W ramach pracy doktorskiej lek Mateusz Puchała podjął się porównania obrazów klinicznych chorych na ANCA-zależne zapalenia małych naczyń wymagających mniej lub bardziej agresywnego leczenia immunosupresyjnego. Realizacji głównego celu badań służy 5 pytań badawczych dotyczących oceny: zależności pomiędzy danymi klinicznymi a wyborem leczenia, zależności pomiędzy zajęciem płuc lub nerek a aktywnością choroby oraz mianem przeciwciał ANCA, korelacji pomiędzy aktywnością choroby a mianem przeciwciał ANCA oraz zależności pomiędzy postacią choroby a ryzykiem nawrotów. Opis metodyki jest stosunkowo zwięzły (obejmuje 2 strony). Do badania włączono chorych z ANCA-zależnymi zapaleniami małych naczyń przyjętych kolejno do Kliniki Chorób Wewnętrznych i Reumatologii oraz Kliniki Chorób Wewnętrznych i Nefrologii CSK MSWiA w Warszawie. Rozpoznanie choroby stawiano w oparciu o aktualne kryteria klasyfikacyjne według ACR/EULAR. Analizie poddano dane kliniczne zabrane na podstawie badania podmiotowego i przedmiotowego, BMI, wyniki badań laboratoryjnych (w tym: ocenę rodzaju i miana przeciwciał ANCA), badań obrazowych oraz zastosowane leczenie. Oceniono także aktywność choroby wg skali BVAS (Birmingham Vasculitis Activity Score).

Wybór metod uważam za adekwatny w stosunku do postawionych celów pracy. Jednakże w opisie metodyki zabrakło niektórych informacji mogących mieć wpływ na

interpretację wyników, a mianowicie: 1). wyjaśnienia czy badanie miało charakter prospektywny czy retrospektywny (załączone formularze informacji dla pacjenta sugerują prospektywny charakter badania: w jakim okresie byli hospitalizowani pacjenci włączeni do badania)? 2). wyjaśnienia kto decydował o wyborze leczenia i czy decyzje te miały jakikolwiek związek z projektem badań będących przedmiotem obecnej pracy? 3). określenia w jaki sposób definiowano remisję lub zaostrzenie choroby?; 4). podania rodzaju i pochodzenia substratów użytych w technice immunofluorescencji pośredniej oraz sposobu odczytu wyników tychże testów (przy użyciu mikroskopu? czy czytnika automatycznego?); 5). podania producenta zestawów ELISA stosowanych do oceny występowania przeciwciał ANCA;

Przedstawieniu wyników poświęcono 40 stron, 20 rycin i 36 tabel.

Badaniem objęto 62 chorych z ANCA-zależnymi zapaleniami małych naczyń: 44 chorych (co stanowiło 71% wszystkich pacjentów) miało GPA, u kolejnych 16 chorych (26%) rozpoznano EGPA, a u pozostałych 2 chorych (co stanowiło 3%) – MPA. Należy podkreślić, że biorąc pod uwagę rzadkie występowanie tych chorób jest to duża populacja, zwłaszcza że pochodzi z jednego ośrodka (szpitala). Wyniki obejmują szereg analiz dotyczących charakterystyki klinicznej, wyników badań laboratoryjnych oraz immunologicznych w zależności od rodzaju leczenia immunosupresyjnego, zajęcia nerek, płuc oraz nawrotowości choroby. Poniżej wymieniam najistotniejsze z punktu widzenia celu pracy. Zdecydowana większość chorych miało ciężki przebieg choroby: postać uogólnioną (55%) albo ciężką lub oporną (23%). Ponad połowa chorych miało zajęcie nerek (61%) i/lub płuc (55%). Leczeniu agresywną immunosupresją zostało poddanych 80% chorych z GPA, 69% chorych z EGPA oraz żaden chory z 2 chorych z MPA. Stwierdzono zależność pomiędzy bardziej agresywnym leczeniem immunosupresyjnym a postacią choroby (wszyscy chorzy z postacią ciężką i/lub oporną na leczenie byli leczeni bardziej agresywnie). W grupie chorych leczonych agresywnie (tzw grupa GB) najczęstszym powikłaniem było zajęcie nerek (dotyczyło 70% chorych) i było ono częstsze w porównaniu z grupą leczoną mniej agresywnie (tzw grupa GN), w której dotyczyło 56% chorych. Odnosnie różnic w częstości zajęcia nerek w grupach GB i GN to należy zwrócić uwagę, że informacja dotycząca istotności statystycznej pomiędzy tymi grupami pojawia się w dyskusji na stronie 98 ($p=0,032$), podczas gdy w opisie wyników na stronie 62 oraz w tabeli nr 13 prezentującej wyniki wartość „p” nie jest znamienna statystycznie ($p=0,332$). Istotną zależność pomiędzy leczeniem a stężeniami przeciwciał p-ANCA obserwowano

wyłącznie u chorych z EGPA. W grupie chorych z GPA, mediana stężenia c-ANCA była dwukrotnie wyższa w grupie chorych leczonych bardziej agresywnie w porównaniu z chorymi leczonymi mniej agresywnie, aczkolwiek różnice nie były istotne statystycznie.

Co ciekawe, obserwowano także istotne zależności pomiędzy zajęciem nerek a postacią choroby: pacjenci z zajęciem nerek istotnie częściej mieli postać uogólnioną (66%) lub ciężką (27%) i istotnie rzadziej – postać miejscową (0%) lub wczesną układową (5%). Analiza dotycząca wyłącznie częstości występowania postaci odpornej na leczenie ma bardzo ograniczoną wartość ze względu na jedynie pojedyncze przypadki (w sumie 2 pacjentów). Chorzy z zajęciem nerek mieli także wyższe wskaźniki zapalenia (OB, CRP) oraz większą aktywność choroby w skali BVAS w porównaniu z chorymi bez zajęcia nerek. Stwierdzono także zależność pomiędzy występowaniem zajęcia płuc a postacią choroby (istotnie częściej postać ciężka (29%), a istotnie rzadziej postać miejscową lub wczesną układową (w sumie 12%) oraz pomiędzy zajęciem płuc a aktywnością choroby w skali BVAS.

W grupie chorych na GPA stwierdzono zależność pomiędzy wyższym mianem c-ANCA a zajęciem nerek oraz istotną statystycznie (aczkolwiek słabą) korelację pomiędzy mianem c-ANCA a aktywnością choroby mierzona skalą BVAS.

Obserwowano także tendencję do związku pomiędzy nawrotami choroby a występowaniem ciężkiej lub odpornej postaci choroby (odpowiednio 41,7% oraz 16,3%, $p=0,108$).

W tej bardzo szerokiej analizie zabrakło mi oceny zależności pomiędzy postacią choroby a mianem przeciwciał ANCA: biorąc pod uwagę zależności pomiędzy postaciami choroby a leczeniem i występowaniem powikłań płucnych i/lub nerkowych z jednej strony oraz pomiędzy p-ANCA a leczeniem i pomiędzy c-ANCA a zajęciem nerek wydaje się, że taka analiza mogłaby dać ciekawe zależności.

Jak wspominałam powyżej, wyniki zostały przedstawione bardzo obszernie oraz dobrze zilustrowane przy pomocy tabel i rycin. Pewną niedogodnością jest jednak brak, w opisie tabel, informacji jakie wartości są przedstawiane (średnica i odchylenia standardowe? mediana i przedział ufności?)

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorant sformułował 5 wniosków:

1. Agresywne leczenie immunosupresyjne jest istotnie częściej stosowane u chorych z zajęciem nerek w porównaniu do grupy chorych bez zajęcia nerek.
2. Brak jest zależności między mianem przeciwciał c-ANCA i p-ANCA a zajęciem płuc.

3. Miano przeciwciał c-ANCA jest istotnie wyższe u chorych na ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń z zajęciem nerek niż u chorych bez zajęcia nerek. W eozynofilowej ziarniniakowatości z zapaleniem naczyń nie ma zależności między obecnością p-ANCA a zmianami w nerkach.

4. Brak jest zależności pomiędzy parametrami zapalnymi, wartością wskaźnika BVAS a mianem markerowych dla ANCA-zależnych zapaleń naczyń autoprzeciwciał w przebiegu MPA i EGPA. W GPA istnieje zależność między mianem c-ANCA a wartością BVAS.

5. Chorzy z oporną i ciężką postacią ANCA-zależnych zapaleń naczyń mają większą skłonność do nawrotów choroby w porównaniu z innymi postaciami choroby.

Wszystkie wnioski oparte są na wynikach przeprowadzonych analiz – z drobnym zastrzeżeniem odnośnie wniosku nr 1 w świetle rozbieżności dotyczących znamienności statystycznej opisanych powyżej. Uważam, że wyniki badań oraz wnioski wyciągnięte przez Doktoranta są bardzo ciekawe i mogą mieć znaczenie dla praktyki klinicznej.

W obejmującej 10 stron Dyskusji Doktorant w sposób krytyczny analizuje wyniki swoich badań w odniesieniu do danych z piśmiennictwa krajowego oraz światowego. Sposób prowadzenia dyskusji świadczy o głębokiej znajomości tematu oraz dojrzałości naukowej.

Obszerne piśmiennictwo obejmuje 134 pozycje, głównie anglojęzyczne i bardzo aktualne (opublikowane w ciągu ostatniego 10-lecia). Pozycje piśmiennictwa są dobrze dobrane. Doktorantowi nie udało się jednak uniknąć pewnych usterek: pozycja piśmiennictwa nr 1 (Yoo J, et al. . Clin Exp Rheumatol 2018;36 Suppl 111(2):85-87.) jest identyczna jak pozycja cytowana pod numerem 29, a pozycja nr 35 (Puszczewicz M. Zapalenia małych naczyń w: Mariusz Puszczewicz, Wielka interna - reumatologia, Wydanie II, Warszawa 2016, str. 229-323." jest tożsama z pozycją nr 43 (Puszczewicz M, Zapalenia małych naczyń w: Wielka interna - reumatologia, red. Puszczewicz M, wydanie II, Warszawa 2016, str. 228-230.).

Kolejne uwagi, natury czysto redakcyjnej, które nasunęły się w czasie czytania pracy dotyczą: 1). braku konsekwencji w użyciu skrótów, np. dla oznaczenia szybkości opadania krwinek na stronie 54 Doktorant używa skrótu OB (który to skrót wg opinii Recenzenta powinien być preferowany w pracy polskojęzycznej), a na kolejnej stronie – skrótu ESR.

2) pewnych nieścisłości: na stronie 12 Doktorant podaje, że rozpoznanie choroby u pacjentów włączonych do badania stawiano w oparciu o „[kryteria ACR/EULAR 2017]”, a na stronie 54 – że użyto w tym celu „kryteriów klasyfikacyjnych (wytyczne ACR z 2007 r.)”

Powyższe uwagi nie ujmują w niczym wartości pracy lek Mateusza Puchały, którą to pracę uważam za bardzo ciekawą i wartościową. Gratuluję Doktorantowi oraz Promotorowi, pani prof. Małgorzacie Wisłowskiej, bardzo ciekawego tematu pracy doktorskiej oraz zebrania i szczegółowego opracowania dużej grupy pacjentów z chorobami rzadkimi jakimi są ANCA-zależne zapalenia małych naczyń. Jestem przekonana, że zebrany materiał, który zgodnie z informacją zawartą w pracy, będzie przechowywany (anonimowo), stanie się źródłem kolejnych ciekawych analiz i prac. Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska lek Mateusza Puchały spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668).

W związku z powyższym przedkładam wniosek Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek Mateusza Puchały do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Otylia Kowal-Bielecka