



Warszawa, dnia 15.02.2019r.

**RECENZJA PRACY W PRZEWODZIE DOKTORSKIM  
LEKARZA MATEUSZA KAMIŃSKIEGO  
p.t. „Wpływ stężenia bilirubiny na stężenie markerów nowotworowych u  
chorych leczonych z powodu żółtaczki mechanicznej”**

Przedstawiona mi do recenzji praca została wykonana w Klinice Chirurgii Ogólnej i Transplantacyjnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, pod kierownictwem Pana Profesora dr hab. n. med. Janusza Strzelczyka.

Markery nowotworowe to substancje o różnorodnej i złożonej strukturze, których zwiększona obecność jest wiązana i interpretowana jako pośredni wskaźnik rozwoju choroby nowotworowej. Po raz pierwszy ich obecność i związek z rozwojem złośliwego procesu rozrostowego wykryto i opisano w połowie XIX wieku. Od tego czasu opisano wiele substancji, które są klasyfikowane w zależności od budowy, składu, pochodzenia i struktury na kilka grup, takich jak: hormony, antygeny płodowe, glikoproteiny, enzymy, bądź produkty rozpadu powstające w guzie. Pomimo trwających prac i odnajdowania nowych substancji, pełniących rolę markerów nowotworowych, do dzisiaj, żaden z tych związków nie osiągnął specyficzności i czułości, pozwalającej na zastosowanie takiego związku do masowych badań przesiewowych, jako izolowanego pojedynczego markera choroby nowotworowej. Okazało się bowiem, że wzrost stężenia wielu z tych substancji może wynikać z więcej niż jednego procesu chorobowego, przy czym często niemającego charakteru rozrostu nowotworowego. Przykładem takich „łagodnych” przyczyn wzrastających stężeń markerów nowotworowych jest choćby wzrost stężenia alfa-fetoproteiny w przebiegu ciąży, po urazach wątroby czy w przebiegu procesu zapalenia tego narządu, wzrost stężenia CA 125 w zapaleniu otrzewnej w przebiegu wodobrzusza, czy wzrost stężenia CA 19.9 u chorych z łagodną, nienowotworową cholestazą i zapaleniem dróg żółciowych.

Do wzrostu stężenia markerów nowotworowych w żółtaczce mechanicznej o etiologii łagodnej może dochodzić w wyniku różnych mechanizmów, sugerowane to: pobudzenie komórek nabłonka dróg żółciowych w wyniku zastojów i zwiększonego ciśnienia żółci, w wyniku toczącego się



zakażenia i zapalenia czy też w wyniku zwrotnego wchłaniania do krwi tych związków z zastoinowej żółci.

Przedstawiona do mojej oceny rozprawa doktorska lekarza Mateusza Kamińskiego w formie 86 stronicowego opracowania zachowuje typowy układ z podziałem na wstęp, cele, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim, bibliografię, listę załączników, spis tabel i rycin oraz wykaz skrótów. Praca doktorska obejmuje 25 tabel, 22 ryciny i 108 pozycji piśmiennictwa. Rozprawa nie budzi moich większych zastrzeżeń pod względem poprawności językowej i interpunkcyjnej. Pojedyncze powtórzenie zwrotów w jednym zdaniu (strona 20), brak spacji pomiędzy wyrazami (strona 9), zamieniona litera „ą” na „ę” (strona 68) i pomyłka w nazewnictwie anatomicznym (str. 6 - w miejsce tętnica wrotna, powinno być żyła wrotna) nie umniejszają w najmniejszym stopniu wartości tej pracy.

We wstępie pracy autor przedstawia obszerne informacje dotyczące anatomii wątroby, dróg żółciowych, trzustki. W kolejnych podrozdziałach omawia patofizjologię i podział żółtaczek, metody diagnostyczne obrazowe i laboratoryjne żółtaczek, a także podstawowe informacje na temat współcześnie wykorzystywanych markerów nowotworowych. Nie wszystkie z tych informacji konieczne były do omówienia i realizacji projektu badawczego, ale pozwalają czytelnikowi na szerokie wprowadzenie w tematykę pracy doktorskiej. Rozdział ten został przygotowany z zastosowaniem i w oparciu o 66 pozycji piśmiennictwa dominująco angielskojęzycznego, powstałego w latach 1975-2018, przy czym większość z nich po roku 2004.

Celem pracy lekarza Mateusza Kamińskiego była ocena wpływu stężenia bilirubiny na stężenie wybranych markerów nowotworowych u chorych leczonych z powodu żółtaczki mechanicznej. Cele pracy zostały sformułowane w trzech podpunktach i obejmowały:

1. Zbadanie i porównanie stężenia markerów nowotworowych CEA, CA 15-3, CA 125, i CA 19-9 u chorych z żółtaczką mechaniczną o etiologii nowotworowej i nienowotworowej
2. Zbadanie zależności poziomu markerów nowotworowych od stężenia bilirubiny przed i w pierwszej, i siódmej dobie po leczeniu.
3. Zbadanie wartości diagnostycznej wybranych markerów nowotworowych (CEA, CA 15-3, CA 125, i CA 19-9) u osób z żółtaczką mechaniczną w wykryciu etiologii nowotworowej choroby.

Do badania włączono 61 chorych leczonych z powodu żółtaczki mechanicznej w Oddziale Chirurgii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego nr 1 od stycznia 2016 do marca 2018 roku.



Wszyscy chorzy poddani byli standardowej diagnostyce obejmującej badania laboratoryjne i obrazowe, w tym co warte podkreślenia, wszystkich chorych zakwalifikowano do badania techniką endoskopowej cholangio-pankreatografii wstecznej (ECPW – skrót ang. ERCP stosowany przez autora). Zaletą tej metody diagnostycznej jest możliwość jednoczesnego postępowania terapeutycznego i odbarczenia żółtaczki. Grupę badaną podzielono na podstawie postawionego rozpoznania na dwie kategorie, w zależności od etiologii żółtaczki. Do pierwszej grupy, w której przyczyną żółtaczki mechanicznej był miejscowy rozwój nowotworu, zakwalifikowano 27 chorych, a do grupy z etiologią nienowotworową 34 chorych. Można uznać, że liczebność obu grup badanych była porównywalna. Na przeprowadzenie całego badania, autor uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Krew do oznaczeń stężenia bilirubiny i markerów nowotworowych pobierano w sposób wystandaryzowany, w dniu badania ERCP oraz kolejnych dobach po zabiegu (doba 1 i 7). Oznaczenia stężenia bilirubiny całkowitej wykonywano przy użyciu analizatora biochemicznego AU 480 (Beckman Coulter) metodą spektrofotometryczną w zakresie stężeń 0 do 513  $\mu\text{mol/L}$ . Markery nowotworowe oznaczano w analizatorze Cobas e601 metodą elektrocheminescencji (ECLIA) przy użyciu odpowiednich dla każdego markera przeciwciał monoklonalnych.

Po oznaczeniu poziomu markerów nowotworowych i bilirubiny porównywano ich stężenia dla chorych z żółtaczką o etiologii nowotworowej i nienowotworowej, uwzględniając dynamikę zmian ich poziomów w kolejnych oznaczeniach.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przyjmując standardowy poziom istotności statystycznej  $p < 0,005$ . Co warte podkreślenia, dane dotyczące przynależności chorych do poszczególnych grup badanych zaślepiono (ukryto), w celu zapewnienia wysokiego stopnia obiektywizmu przeprowadzanej analizy. Do analizy zmiennych ciągłych wykorzystano test Shapiro-Wilka. Oceniano także rozkład zmiennej na wykresie kwantyl-kwantyl (tzw. Q-Q plot) dla oceny wielkości efektu. Jeśli p testu Shapiro-Wilka wynosiło  $< 0,005$  to stosowano testy U Mann-Whitney dla grup niezależnych oraz test Wilcoxon dla grup zależnych. Jeśli p testu Shapiro-Wilka wynosiło  $> 0,005$  to stosowano test t-Studenta dla grup niezależnych i zależnych. Całość analizy przeprowadzono w SPSS dla Windows.

Wyniki badań zostały przedstawione przez autora rozprawy na 32 stronach, w sześciu podrozdziałach, w formie opisowej oraz w 25 tabelach i 20 rycinach. Przedstawienie wyników



zaczyna się od analizy danych demograficznych badanych grup chorych, gdzie stwierdzono istotną statystycznie różnicę w wieku chorych (chorzy z rozpoznaniem nowotworu starsi  $p=0,04$ ) i brak istotności w rozkładzie płci. Dominującym rozpoznaniem w grupie chorych z etiologią nowotworową żółtaczki mechanicznej był rak trzustki rozpoznany u 75% chorych. Rak pęcherzyka żółciowego (12,5%) i pozostałe przyczyny (4,2%) występowały u pojedynczych chorych. W populacji chorych z nienowotworową etiologią żółtaczki dominowała kamica przewodowa (89,2%).

Analiza stężeń bilirubiny we wszystkich trzech etapach leczenia (w dobie 0, 1 i 7) wykazała istotnie statystycznie wyższe stężenie tego parametru w grupie chorych z nowotworową etiologią żółtaczki mechanicznej, co jest zgodne z ogólnie prezentowanymi wynikami i przewidywaniem. Mediana stężenia bilirubiny w obu grupach w każdym kolejnym oznaczeniu ulegała systematycznemu obniżaniu, a spadki mediany pomiędzy poszczególnymi dnami były każdorazowo istotne statystycznie.

Wyniki badania poziomu markera CA 125 w dobie 0 wykazały, że był nieistotnie statystycznie wyższy ( $p=0,063$ ) w grupie chorych z żółtaczką o etiologii nowotworowej a mediana stężeń w obu grupach była poniżej górnej granicy normy. Taki sam wynik powtórzył się w kolejnych oznaczeniach w dobie 1 i 7 w obu grupach. Co ciekawe, analiza wykazała ciągły wzrost mediany stężeń tego markera w kolejnych dobach badania.

Wyniki badania poziomu markera CA 15-3 w dobie 0 wykazały, że był nieistotnie statystycznie wyższy ( $p=0,81$ ) w grupie chorych z żółtaczką o etiologii nowotworowej a mediana stężeń w obu grupach była u połowy badanych poniżej górnej granicy normy. Także w kolejnych oznaczeniach w dobie 1 i 7 nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w obu grupach, a średnie stężenie oraz mediana były poniżej górnej granicy normy. Analiza zmiany mediany stężenia CA 15-3 wykazała bardzo małą dynamikę zmian. Mimo to w części opisowej autor wykazał istotny statystycznie spadek stężenia CA 15-3 między dobą 1 a 7 w obu grupach, który nie koresponduje z danymi z tabeli 14 (strona 49), w której wykazano istotny spadek pomiędzy dobą 0 a 1 i to tylko w grupie z etiologią nowotworową. W mojej ocenie ta rozbieżność opisu z wynikami z tabeli wymaga weryfikacji.

Poziom markera CA 19-9 w dobie 0, 1 i 7 był istotnie statystycznie wyższy (odpowiednio  $p=0,035$ ,  $p=0,017$ ,  $p=0,023$ ) w grupie chorych z żółtaczką o etiologii nowotworowej. Mediana stężeń w obu grupach pokazuje stały spadek markera po wdrożeniu leczenia, w każdym



kolejnym oznaczeniu. Spadek ten osiągał znamienność statystyczną w obu grupach, z wyjątkiem doby pierwszej w grupie chorych z rozpoznaniem nowotworu.

Poziom markera nowotworowego CEA w dobie 0, 1 i 7 był istotnie statystycznie wyższy w grupie chorych z żółtaczką o etiologii nowotworowej, jednak podobnie jak w drugiej grupie mediana stężenia była poniżej górnej granicy normy. Analiza zmiany mediany CEA w grupie bez nowotworu, wykazała bardzo małą dynamikę i brak istotności statystycznej. W przeciwieństwie do tego zmiana mediany w grupie z rozpoznaniem nowotworu wykazywała stały istotny statystycznie spadek stężenia po leczeniu.

Otrzymane wszystkie wyniki badań autor omawia w dyskusji na 6 stronach, odnosząc się do wybranych 31 pozycji piśmiennictwa z ostatnich lat. Pierwszym, istotnym z punktu widzenia klinicznego wnioskiem z przeprowadzonego badania i potwierdzonym w cytowanych pracach jest stwierdzenie, że żaden z badanych markerów nie pozwala na jednoznaczne stawianie rozpoznań i wnioskowanie co do rokowania. W praktyce klinicznej konieczne jest konfrontowanie każdego wyniku oznaczenia markerów nowotworowych z innymi danymi i uzyskiwanie przez to łączenie znacznie wyższych wskaźników czułości i specyficzności. Nawet dedykowany rakowi trzustki marker CA 19-9 jest „wrażliwy” na występowanie zaburzeń w odpływie żółci o nienowotworowym charakterze, w szczególności, gdy towarzyszy im zapalenie dróg żółciowych. Cytowany przez autora Marelli opisał zbliżoną częstość (61% vs 86%) wyników przekraczających normę markera CA 19-9 u chorych z nowotworowymi i nienowotworowymi zaburzeniami w odpływie żółci (cholestazą). Podjęta próba oceny przydatności kilku badanych jednocześnie markerów nowotworowych i konfrontowanie wyników ze stężeniem bilirubiny wykazała, wyższe statystycznie mediany stężeń zarówno bilirubiny całkowitej jak i markerów CEA i CA 19-9 w grupie chorych z nowotworową etiologią żółtaczki, osiągając przy tym, pomimo relatywnie małych grup, znamienność statystyczną. Co było oczekiwane średni wiek tej grupy chorych był istotnie statystycznie wyższy. Jak zaznacza autor rozprawy, mimo istotnych statystycznie wyższych stężeń CA 19-9 w grupie z rozpoznaniem nowotworem, wyniki nadal są trudne do interpretacji. Nawet fakt znamiennego obniżania się tego markera u chorych po odbarczeniu żółtaczki, nie jest prosty w interpretacji, ponieważ następował on po diagnostyczno-leczniczym badaniu ERCP, a nie po leczniczej operacji z usunięciem masy nowotworu. To zresztą sprawia, że zawarta w tytule sugestia, że poziom bilirubiny ma wpływ na stężenie markerów



nowotworowych jest o tyle prawdziwa, o ile stężenie bilirubiny jest miarodajnym elementem oceny stopnia cholestazy (utrudnienia w odpływie żółci). Metodą zwiększającą czułość, a zwłaszcza specyficzność oznaczenia CA19-9 jest ustalenie wysokiego progu stężenia tego markera jako punktu odcięcia uznawanego za diagnostyczny. Brak jest jednak w tym względzie konsensusu i cytowana wartość powyżej tysiąca U/ml przez Parkinsa i współautorów w 2003 roku nie jest powszechnie przyjętym kryterium. Jeszcze niższą czułość w wykrywaniu gruczolaka trzustki ma CEA. Zarejestrowane i opisane przez doktoranta znamienne statystycznie wyższe stężenia CEA i istotnie statystycznie obniżające się stężenia CEA po odbarczeniu żółtaczki u chorych z nowotworem trzustki, w połączeniu z badaniami CA 19-9 mogą więc stanowić cenne uzupełnienie stosowanych dotychczas rutyn w oznaczaniu markera CA 19-9 jako zamiennika CEA. Ma to także znaczenie wobec cytowanego w pracy Wu L., Huang P. i współautorów z 2015 roku, negatywnego rokowniczego znaczenia poziomów CEA powyżej 4,7 ng/ml u chorych z rakiem trzustki (niezależny czynnik złego rokowania). Dlatego w mojej ocenie łączne oznaczanie obu markerów ma uzasadnienie.

Pozostałe oznaczane przez doktoranta markery (CA 125 i CA 15-3) w połączeniu ze zmianami stężenia bilirubiny, nie wykazały istotnych wartości, co każe przypuszczać, że zgodnie zresztą z cytowanym piśmiennictwem, ich oznaczanie ma sens wyłącznie w połączeniu z pozostałymi dwoma markerami, omawianym wcześniej.

W końcowej części dyskusji, doktorant cytuje prace poświęcone oznaczeniom markerów nowotworowych w krwi wrotnej i żółci, czyli na etapie operacji, której wynikiem jest jednoznaczne i ostateczne ustalenie rozpoznania. Bez względu na i tak trudne w interpretacji wyniki tych oznaczeń, na tym etapie wspomaganie się w diagnostyce oznaczeniami markerów wydaje się mieć raczej wartość wyłącznie naukową.

Przedstawione w trzech punktach wnioski odpowiadają celom pracy i w mojej ocenie są istotne zarówno pod względem naukowym jak i potencjalnie klinicznym.

Podsumowując, praca doktorska Pana doktora Mateusza Kamińskiego, realizuje dobrze zaplanowany eksperyment kliniczno-badawczy, doprowadzając do kilku ciekawych diagnostycznych wniosków oraz dostarczając informacji, znajdujących potencjalnie zastosowanie w praktyce klinicznej. O wartości tej pracy i jej przydatności, może świadczyć dodatkowo fakt, że jest ona przeprowadzona po analizie i z omówieniem bardzo aktualnej bibliografii światowej, cytowanej szeroko we wstępie i dyskusji.



**KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII OGÓLNEJ I TRANSPLANTACYJNEJ  
UNIwersYTECKIE CENTRUM KLINICZNE  
WARSZAWSKIEGO UNIwersYTETU MEDYCZNEGO**  
Szpital Kliniczny Dzieciątka Jezus  
ul. Nowogrodzka 59, 02-006 Warszawa  
Kierownik: *Dr hab. med. Maciej Kosieradzki*



Po dokładnej analizie przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej lekarza Mateusza Kamińskiego stwierdzam, że praca spełnia wymogi ustawowe i wymagania stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych. Oceniam recenzowaną pracę bardzo dobrze i wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

.....