

Kraków, dnia 29.05.2020 roku

**Ocena**  
**rozprawy doktorskiej lek. med. Tomasza Klimczaka**  
**pt. „Ekspresja immunohistochemicznych markerów CDX-2 oraz**  
**p53 jako użyteczne narzędzie w diagnostyce dysplazji gruczołów**  
**w przebiegu przełyku Barreta”.**

Przełyk Barreta jest częstym schorzeniem przewodu pokarmowego, w praktyce klinicznej rozpatrywanym jako współistniejący czynnik patogenetyczny długotrwałych zaawansowanych zmian metaplastycznych i dysplastycznych oraz w konsekwencji raka przełyku w zakresie jego dolnego, najczęściej podprzeponowego odcinka oraz okolicy wpustu czyli miejsca połączenia przełyku z żołądkiem.

Z reguły rozpatruje się jego podłoże, które zostało najpełniej przebadane w aspekcie jedno przyczynowym choroby refluksowej (objawy kliniczne choroby refluksowej przełyku – GERD) lub ewentualną wieloczynnikową stymulację rozwoju zmian dysplastycznych i mikro ognisk raka gruczołowego.

Długotrwała zmiana prawidłowego środowiska przełyku przez refluks treści kwaśnej, lub alkalicznej (głównie nocą) może przebiegać bezobjawowo (większość chorych) i nie być diagnozowana, lub z klinicznymi cechami zapalenia przełyku, które są powodem rozpoczęcia szczegółowej diagnostyki klinicznej.

Postęp, jaki dokonał się w diagnostyce obejmuje ocenę czynności motoryki przełyku, ocenę biochemiczną w środowisku cewy pokarmowej (manometria przełyku oraz pH-metria z impedancją) oraz zaawansowane badania endoskopowe i radiologiczne. Dotychczas uszczegółowiono sposób przeprowadzania badań endoskopowych; wprowadzono kryteria wielomiejscowego pobierania wycinków i rozwinięto techniki oceny histopatologicznej wycinków, w tym ostatnim zagadnieniu wprowadzono możliwość wykonywania badań immunohistochemicznych. Przytaczane badania badania te są na tyle specyficzne, że wykonywane są w ramach specjalizacji ponad podstawowej tj. przez gastroenterologów i chirurgów centrów medycznych wyposażonych w pracownie wykonujące te zaawansowane badania.

Konieczność dodatkowej ścieżki diagnostycznej jest racjonalnie podejmowana w przypadkach klinicznie ewidentnych – nasilonych objawów choroby refluksowej co często jest pomijane w stanach bezobjawowych, lub o małym nasileniu dolegliwości. Rozpoznanie raka przełyku na podłożu zmian zapalnych przełyku typu Barreta może być w związku z tym niejednoznaczne, lub co częściej - nie występuje w fazie wstępnej choroby nowotworowej.

Z tego powodu pozostaje otwartym problem jak algorytmizować postępowanie diagnostyczne (diagnostyczno-lecznicze) u zgłaszających się do leczenia pacjentów z chorobą refluksową.

Jak w każdym przypadku diagnostyki procedura postępowania powinna opierać się o badanie przynajmniej ustalonych czynników patogenetycznych choroby.

W tym celu obowiązują zasady kompleksowej, wielodyscyplinarnej oceny czynników mogących wpływać na dalszy przebieg choroby Barreta; stąd każda podjęta próba odnalezienia dodatkowych elementów diagnostycznych przybliży poprawność postawienia rozpoznania oraz zwiększa szansę ostatecznego szybkiego podjęcia właściwego leczenia.

W tych kategoriach ocenić zaangażowanie badawcze Doktoranta, który analizował wartość dodatkowych elementów diagnostycznych – markerów CDX-2 i p53 z próbę twórczego, a zarazem praktycznego włączenia ich oceny w skuteczny algorytm diagnostyczny raka dolnego odcinka przełyku. Ważnym kierunkiem badań klinicznych jest analiza różnych czynników prognostycznych mogących mieć wpływ na poprawę odległych wyników leczenia raka przełyku, wśród których niezwykle istotnym jest wczesne poprawna diagnostyka mikro ognisk raka śródśluzówkowego.

Do takich prac należy dysertacja doktorska lekarza medycyny **Tomasza Klimczaka pt. „Ekspresja immunohistochemicznych markerów CDX-2 oraz p53 jako użyteczne narzędzie w diagnostyce dysplazji gruczołów w przebiegu przełyku Barreta”.**

Rozprawa doktorska pochodzi z Oddziału Nauk Biomedycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, jednego z wiodących w Polsce ośrodków leczenia schorzeń przewodu pokarmowego, którego osiągnięcia są znane i cenione w kraju i zagranicą.

Dysertacja doktorska liczy 44 strony, tekst pracy jest ujęty w 11 rozdziałach i jest ilustrowany 17 rycinami, 11 tabelami. Piśmiennictwo

obejmujące doniesienia polskie i zagraniczne ma 98 pozycji i jest przeglądem najnowszych doniesień naukowych, jest dobrane adekwatnie i trafnie do wymogów przedstawienia problemu oraz dyskusji i analizy.

Dokonując oceny dysertacji należy podkreślić bardzo staranną edycję rozprawy, napisaną w sposób przejrzysty, z czytelnymi wykresami i tabelami ułatwiającymi zapoznanie się z wynikami badań i co jest niezmiernie istotne – poprawnym językiem polskim.

Celem przeprowadzonych badań było określenie istnienia korelacji pomiędzy dodatnim wynikiem ekspresji białek CDX-2 i p53, a oceną histopatologiczną dysplazji dużego stopnia w zmianach zapalnych przełyku typu Barreta.

Doktorant przeprowadził badania oceniające w prospektywnej analizie 63 chorych porównując dwie grupy w zależności od występowania objawów choroby refluksowej, z dodatnim wywiadem klinicznym - 53 chorych i grupy kontrolnej chorych bezobjawowych, bez cech GERD – 10 chorych. Badania obejmowały analizę danych klinicznych uzyskanych z wywiadu lekarskiego przepukliny rozworu przełykowego i objawów refluksu, diagnostyki endoskopowej i histopatologicznej pobieranego materiału oraz oceny występowania dodatniego oznaczenia markerów CDX-2 i p53.

Uzyskane wyniki poddano opracowaniu statystycznemu uwzględniając elementy statystyki opisowej oraz testów analizy jednoczynnikowej właściwych dla ocenianej liczebności grup, korzystając z programu Statistica.

Na podstawie dokonanej analizy Doktorant sformułował trzy wnioski, które stanowiły odpowiedź na stawiane w celu pracy zadania badawcze.

Oceniając wartość dysertacji doktorskiej lekarza medycyny Tomasza Klimczaka warto podkreślić bardzo dobre przygotowanie pierwszej części pracy, uzasadniającej podjęcie problematyki wieloczynnikowej diagnostyki zmian dysplastycznych do rozwoju których zawsze może dojść w trakcie utrzymujących się zmian zapalnych dolnego odcinka przełyku.

W sposób czytelny została przedstawiona problematyka diagnostyki, w tym zasad pobierania wycinków. Problematyka ta została trafnie oparta o doniesienia literaturowe, własne spostrzeżenia kliniczne, a właściwe miejsce znalazły polskie prace oryginalne, w szczególności dotyczące badań mikroskopowych i molekularnych.

Przedstawione wyniki badań wykazują zależność pomiędzy występowaniem możliwego do oznaczenia miana markera CDX-2 i p53 i przewlekłym zapaleniem przełyku z obecnymi ogniskami dysplastycznymi w chorobie Barreta.

Istotnym badaniem obiektywizującym była ocena histopatologiczna pobranych wycinków w trakcie prawidłowo wykonanej endoskopii górnego odcinka przewodu pokarmowego.

Zastosowanie modelu połączonych obu metod diagnostycznych pozwoliło wykazać znamienność statystyczną występowania ognisk dysplazji dużego stopnia u chorych z objawową chorobą GERD. Przedstawione wyniki badań potwierdziły tezę o związku przyczynowym pomiędzy zaawansowanymi zmianami dysplastycznymi nabłonka a występowaniem CDX-2 i p53 w prezentowanym materiale.

Wyniki te są istotne, ponieważ umożliwiają wprowadzenie zaleceń w algorytmie choroby Barreta o charakterze populacyjnie powszechnym o poszerzeniu diagnostyki i niezależnym leczeniu specjalistycznym w wyniku jej stwierdzenia. Postępowanie takie może oznaczać wyższą skuteczność odległą i trafność diagnostyczną przy eliminacji niedoskonałości związanych z pobraniem materiału podczas badania endoskopowego, lub jego dalszą oceną.

Ocena wartości metody w kontekście zatwierdzonego algorytmu diagnostycznego może być jednak dokonana po badaniach w skali populacyjnej, gdyż prezentowane grupy badawcze są zbyt niskiej liczebności dla wniosków o charakterze wytycznych.

Kolejne analizy w rozprawie doktorskiej lekarza medycyny Tomasza Klimczaka odnoszą się do analizy poszczególnych szczegółowych elementów składowych zależności występowania markera CDX-2 i p53 w grupach objawowych GERD/Barret obecny; GERD/Barret nieobecny i bezobjawowej. Oceny porównań jednoczynnikowych pokazują istotność w parametrze występowania każdego z markerów, a także ich współwystępowania w grupie GERD /Barret obecny. W ocenianej dysertacji doktorskiej obserwowano znaczącą korelację pomiędzy wymienionymi w ocenie końcowej wyników.

Przedstawiona obserwacja, dokonana przez Doktoranta pozwoliła na sformułowanie wniosku o rozszerzeniu schematu postępowania diagnostycznego o oznaczenie CDX-2 i p53 jako dodatkowego narzędzia badawczego.

Wszystkie wnioski podsumowujące badania wynikają z dokonanych pomiarów i są dla recenzenta jasno przedstawione w tabelach i rycinach jak również omówione w porównaniu z badaniami na świecie.

Podsumowując, praca lekarza medycyny Tomasza Klimczaka spełnia wymogi stawiane dysertacjom doktorskim. O wartości pracy świadczy osiągnięty cel w problemie badawczym. Należy nadmienić, że Autor sam wskazuje na trudności z osiągnięciem wysokiej liczby chorych do analizy, co może wpływać negatywnie na wyniki badań. Wniosek ten jest jednak zachęcającym do analiz wielośrodkowych (najczęściej obecnie wykonywanych w pracach klinicznych o niskiej liczebności grup), co stwarza Autorowi dysertacji dalsze możliwości badawcze w omawianym temacie, a z tym związane kolejne analizy potwierdzające słuszność stawianych tez i otrzymanych wyników.

Z przyjemnością należy podkreślić że recenzent nie ma istotnych uwag krytycznych do prezentowanej pracy, ponieważ, zarówno metodyka, sposób przeprowadzenia badań oraz zamierzone cele zostały przez lekarza medycyny Tomasza Klimczaka osiągnięte i sposób ich przedstawienia spełnia wymogi dysertacji doktorskiej >Istniejące, pojedyncze błędy literowe (w opisie grup- rozdział 6.2 pt. omówienie grup istnieje: 1 przypadków...) nie umniejszają wartości pracy – są więc nieistotne dla pozytywnej oceny.

Z uwagi na jakość badań naukowych oraz wkład dla uzupełnienia wiedzy dotyczącej diagnostyki zmian dysplastycznych przełyku proponuję Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi **przedstawienie pracy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Lekarz medycyny Tomasz Klimczak w oparciu o przedstawioną dysertację spełnia warunki stawiane ubiegającym się o uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych.

Prof.dr hab. med. Piotr Richter

