



KLINIKA GASTROENTEROLOGII I CHORÓB WĘWNETRZNYCH

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
15 – 276 Białystok, ul. M. Skłodowskiej – Curie 24 A
tel. 85 7468234 fax. 85 7468506
e-mail: jaroslaw.daniluk@umb.edu.pl

Białystok, 22.08.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Małgorzata Woźniak

pt. “Rozpoznanie różnicowe niedokrwistości w przebiegu nieswoistych chorób zapalnych jelit na podstawie analizy parametrów laboratoryjnych”

Promotor: Prof. UM Renata Talar-Wojnarowska, prof. UM

**Rada Nauk Medycznych
Uniwersytet Medyczny w Łodzi**

Wprowadzenie do recenzji

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lekarz Małgorzaty Woźniak pt. “Rozpoznanie różnicowe niedokrwistości w przebiegu nieswoistych chorób zapalnych jelit na podstawie analizy parametrów laboratoryjnych” dotyczy niezwykle istotnego problemu, będącego jednocześnie jednym z najczęstszych manifestacji pozajelitowych nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ).

Na przestrzeni ostatnich lat obserwujemy globalny wzrost zachorowalności na NChZJ. Niedokrwistość, która jest uważana za najczęstsze powikłanie metaboliczne NChZJ, prowadzi do znacznego upośledzenia jakości życia pacjentów i pogorszenia przebiegu choroby. Według danych literaturowych niedokrwistość dotyczy 10-73% pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna (ChL-C) i 10-66% z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG). Co więcej może być ona istotnym czynnikiem predykcyjnym wystąpienia choroby, ponieważ stwierdza się ją u 6,5% pacjentów co najmniej rok przed ustaleniem rozpoznania NChZJ. Najczęstszymi przyczynami anemii są: niedokrwistość z niedoboru żelaza, witaminy B12 lub kwasu foliowego oraz niedokrwistość chorób przewlekłych. Ponieważ u chorych z NChZJ obserwujemy często przewlekłe krwawienia, zaburzenia wchłaniania, niedożywienie, przewlekły stan zapalny i toksyczne efekty stosowanych leków, przyczyna niedokrwistości w tej grupie pacjentów jest często wieloczynnikowa i trudna do określenia.

Ze względu na przewlekły charakter choroby zasadniczej objawy niedokrwistości mogą być niespecyficzne. Dlatego tak istotne jest opracowanie wiarygodnych markerów określających jej przyczynę. W tym kontekście przedstawiona do recenzji dysertacja jest wartościowym i nowatorskim uzupełnieniem naszej dotychczasowej wiedzy na ten temat. W codziennej praktyce klinicznej, przy obniżonym stężeniu hemoglobiny u pacjentów z NChZJ, analizuje się najczęściej średnią objętość krwinek czerwonych (MCV), liczbę retikulocytów, stężenie ferrytyny, wysycenie transferyny, parametry stanu zapalnego – stężenie białka C-reaktywnego (CRP), liczbę leukocytów. Ferrytyna, która jest najdokładniejszym wskaźnikiem zapasów żelaza w organizmie, jest jednocześnie białkiem

ostrej fazy, więc jej stężenie może być prawidłowe lub podwyższone w aktywnej postaci NChZJ, nawet przy niedoborze żelaza. Ponieważ diagnostyka różnicowa niedokrwistości z niedoboru żelaza z niedokrwistością chorób przewlekłych jest szczególnie trudnym wyzwaniem klinicznym, poszukiwane są nowe parametry laboratoryjne, które mogłyby ułatwić postawienie pewnego rozpoznania. Podkreśla się rolę hepcydyny, a wstępne obiecujące dane dotyczą także erytroferronu i białek morfogenetycznych kości, choć dostępne dane literaturowe u chorych na NChZJ są nieliczne. Stężenie hepcydyny, głównego hormonu regulującego gospodarkę żelaza w organizmie, może być zwiększone wskutek aktywacji cytokin prozapalnych. Konsekwencją tego jest zmniejszone wchłanianie żelaza z komórek nabłonka jelitowego. Erytroferron i białko morfogenetyczne kości 6 (BMP-6) to niedawno zidentyfikowane cytokiny uczestniczące na różnych etapach w procesie wzmożonej erytropoezy w niedokrwistości o różnym patomechanizmie. Wykazano wzrost stężenia erytroferronu w przypadku niedoborów żelaza. Jednocześnie nie stwierdzono, aby jego poziom był zależny od współistniejącego stanu zapalnego lub niedotlenienia. BMP-6 pośredniczy w regulacji ekspresji hepcydyny, zwiększając transkrypcję jej genu. Co istotne, białka te nie były dotychczas badane u chorych na NChZJ.

W obliczu powyższych informacji rozprawa doktorska lekarz Małgorzaty Woźniak dotyczy tematu jak najbardziej aktualnego nie tylko pod względem badania naukowego, ale również w wymiarze codziennej praktyki klinicznej. Doktorantka podjęła się niezwykle trudnego zadania nie tylko określenia częstości i przyczyn niedokrwistości u pacjentów z NChZJ, ale również poszukiwania nowych parametrów laboratoryjnych mogących mieć znaczenie w diagnostyce anemii.

Omówienie rozprawy

Przedstawiona do oceny dysertacja sporządzona jest w sposób poprawny, typowy dla rozpraw doktorskich. Praca liczy łącznie 87 stron, zawiera 19 rycin i 12 tabel, ilustrujących i dopełniających omawiane tematy oraz uzyskane wyniki. Problem badawczy został przedstawiony we Wstępie na 20 stronach podzielonych na 3 podrozdziały. Doktorantka w sposób niezmiernie dokładny, świadczący o ogromnej znajomości tematu, przedstawiła informacje dotyczące epidemiologii oraz potencjalnych przyczyn niedokrwistości w NChZJ. Oddzielny podrozdział poświęcono diagnostyce różnicowej przyczyn niedokrwistości z uwzględnieniem najczęściej używanych w praktyce klinicznej parametrów laboratoryjnych. Dopełnieniem tego fragmentu rozprawy jest zamieszczony diagram klasyfikacji niedokrwistości w oparciu o MCV i liczbę retikulocytów oraz tabela różnicująca niedokrwistość chorób przewlekłych z niedokrwistością z niedoboru żelaza, które systematyzują zawarte w tekście informacje. Doktorantka przedstawia też ograniczenia dotychczasowych parametrów laboratoryjnych, podkreślając konieczność badań nad nowymi markerami przyczyn anemii. Konsekwencją tego jest obszerne wyjaśnienie roli hepcydyny, erytroferronu i BMP w utrzymaniu homeostazy gospodarki żelazem, z uwzględnieniem najnowszych badań na ten temat. Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na błąd w nazewnictwie cytokiny BMP-6. Doktorantka określiła ją jako białko morfogenetyczne krwi zamiast kości. W oddzielnym podrozdziale opisano leczenie niedokrwistości w NChZJ w zależności od jej przyczyny.

Dopełnieniem wstępu jest rzeczowe uzasadnienie podjęcia tematu badawczego, czyli oceny częstości i przyczyny niedokrwistości w NChZJ, jak również zasadności poszukiwania nowych parametrów oceniających gospodarkę żelaza. Cele projektu badawczego, którego efektem jest rozprawa doktorska zostały zwięźle przedstawione w pięciu punktach. Są one adekwatne do podjętej tematyki i wyboru metod badawczych.

Grupę badaną stanowili chorzy na NChZJ hospitalizowani w Klinice Chorób Przewodu Pokarmowego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, w latach 2016-2018. Do grupy kontrolnej

zakwalifikowano zdrowych ochotników bez niedokrwistości i chorób przewlekłych oraz z prawidłowym obrazem jelita grubego w kolonoskopii. Bardzo klarownie przedstawiono zarówno kryteria włączenia jak i wykluczenia z badania. U osób zakwalifikowanych do badania wykonywano podstawowe badania laboratoryjne, takie jak pełna morfologia krwi obwodowej, CRP, żelazo, ferrytyna i transferyna oraz dodatkowo oznaczano stężenia hepcydyny, witaminy B12, erytroferronu i BMP-6. Niezmiernie precyzyjnie, w formie tabel, przedstawiono metody klasyfikacji aktywności klinicznej i endoskopowej w ChL-C i WZJG. Zastrzeżeniem dotyczącym tej części dysertacji jest brak informacji czy wszyscy chorzy mieli kolonoskopię, a jeśli tak czy była ona wykonana w momencie kwalifikacji do badania. Ponadto, wartościowym uzupełnieniem oceny aktywności choroby byłoby oznaczenie stężenia kalprotektyny w kale. Jednak te sugestie w niczym nie umniejszają wartości uzyskanych danych.

Wyniki Doktorantka przedstawiła w sposób bardzo usystematyzowany, analizując dokładnie wszystkie oceniane parametry i powiązania między nimi, zgodnie z założonymi celami pracy. Wszystkie badane parametry poddano szczegółowej analizie statystycznej. Wyniki przygotowano w formie licznych rycin (5-19) i tabel (10-12) z opisowym ich omówieniem. Badaniem objęto 118 chorych na NChZJ, w tym 55 na WZJG i 63 na ChL-C. Doktorantka precyzyjnie przedstawiła podstawowe dane demograficzne badanych osób, lokalizację i aktywność choroby, jak również informacje dotyczące aktualnego leczenia. Niezmiernie wartościowym wynikiem uzyskanym w badaniu jest stwierdzenie dużej częstości niedokrwistości u chorych z NChZJ, co potwierdza zasadność podjęcia tematu badawczego. Niedokrwistość, zwykle w stopniu umiarkowanym lub łagodnym, wykazano istotnie częściej w ChL-C - 66,7%, niż WZJG - 56,4%. Uzyskane wyniki wpisują się w szeroki przedział częstości anemii raportowanej w innych pracach. Występowanie niedokrwistości nie miało związku z płcią, wiekiem chorych oraz czasem trwania choroby. W mojej opinii interesującym uzupełnieniem tych danych może być uwzględnienie wpływu palenia tytoniu na częstość niedokrwistości. Niektóre badania sugerują, że u palących osób z NChZJ, wskutek polycytemii, stwierdza się wyższe stężenie hemoglobiny. W przedstawionej do recenzji pracy wykazano, że częstość występowania niedokrwistości zwiększa się wraz z nasileniem choroby i zakresem zmian zapalnych w badaniu endoskopowym, zarówno u pacjentów z ChL-C, jak i z WZJG. Lekarka Małgorzata Woźniak bardzo trafnie odnosi się do tej obserwacji w dyskusji sugerując, że powiązanie występowania niedokrwistości z zasięgiem zmian endoskopowych, szczególnie widoczne we WZJG, jest konsekwencją jawnego lub utajonego krwawienia ze zmienionej zapalnie błony śluzowej. Kolejnym wartościowym spostrzeżeniem poczynionym w badaniu przez Doktorantkę jest wykazanie istotnego wydłużenia czasu hospitalizacji u pacjentów z NChZJ i niedokrwistością w porównaniu do osób bez niedokrwistości. Dotyczyło to szczególnie chorych na WZJG, którzy byli hospitalizowani o około 6 dni dłużej. Było to prawdopodobnie spowodowane cięższym przebiegiem choroby, ponieważ u tych pacjentów częściej zachodziła potrzeba stosowania steroidów i leków immunosupresyjnych, niemniej jednak potwierdza to istotny wpływ wystąpienia niedokrwistości na przebieg NChZJ.

W prezentowanej pracy wykazano, że najczęstszym typem niedokrwistości u chorych z WZJG była anemia mikrocytarna hipochromiczna (38,71%), a u chorych na ChL-C normocytarna normochromiczna (52,38%). Jak słusznie zauważa Doktorantka, wyniki te mogą sugerować przewagę niedokrwistości z niedoboru żelaza we WZJG, zaś niedokrwistości chorób przewlekłych w ChL-C. Co ciekawe, obniżone stężenie witaminy B12 stwierdzono jedynie u 7 chorych, bez istotnej różnicy zarówno w ChL-C, jak i we WZJG. Zamiast spodziewanej niedokrwistości megaloblastycznej dominowała u tych pacjentów anemia normocytarna normochromiczna (ChL-C) lub mikrocytarna hipochromiczna (WZJG). Autorka ponownie bardzo trafnie komentuje te wyniki stwierdzeniem, że

niedobór witaminy B12 u pacjentów z NChZJ prawdopodobnie jedynie współistnieje z inną, dominującą przyczyną niedokrwistości, a typowy obraz niedokrwistości megaloblastycznej jest wyjątkowo rzadki w tej grupie chorych. W przedstawionej pracy badawczej nie wykazano istotnych statystycznie różnic w średnim stężeniu ferrytyny u chorych z niedokrwistością i WZJG lub ChL-C, także w porównaniu do grupy kontrolnej. U większości chorych stężenie ferrytyny, która jest białkiem ostrej fazy, było prawidłowe lub podwyższone. Wyniki te potwierdzają, że niskie stężenia ferrytyny, będące kluczowym parametrem niedoboru żelaza, występują tylko u niewielkiego odsetka chorych na NChZJ. Również wysycenie transferrytyny <16% stwierdzono u niewielkiego odsetka pacjentów z NChZJ.

Analiza nowych parametrów gospodarki żelaza wykazała, że średnie stężenie hepcydyny u chorych na WZJG ze stwierdzoną niedokrwistością było istotnie niższe w porównaniu do chorych na WZJG bez niedokrwistości oraz do grupy kontrolnej. Zależności takiej nie wykazano u pacjentów z ChL-C. U chorych na ChL-C z niedokrwistością stężenie hepcydyny było istotnie wyższe niż u chorych na WZJG. Uzyskane wyniki przemawiają za hipotezą Doktorantki, iż u chorych z WZJG dominuje niedokrwistość z niedoboru żelaza, natomiast w ChL-C niedokrwistość o złożonej etiologii. Średnie stężenie kolejnego z analizowanych parametrów, erytoferronu, w grupie chorych na NChZJ z niedokrwistością było istotnie statystycznie wyższe niż w grupie kontrolnej. Niemniej jednak, analizując oddzielnie pacjentów z WZJG i ChL-C nie wykazano różnicy w jego stężeniu u pacjentów z i bez niedokrwistości. Nie wykazano również związku pomiędzy stężeniem erytoferronu a stężeniem żelaza lub hepcydyny w analizowanych grupach chorych. W prezentowanym badaniu wykazano ponadto, że stężenie BMP-6 było wyższe jedynie u chorych na ChL-C z niedokrwistością w porównaniu do osób zdrowych z grupy kontrolnej. Takiej zależności nie obserwowano w odniesieniu do chorych na WZJG. Jak słusznie zauważa Doktorantka w dyskusji, potrzebne są dalsze badania dotyczące roli tej erytoferronu i BMP-6 w diagnostyce i różnicowaniu niedokrwistości u chorych z NChZJ, ponieważ nasza obecna wiedza bazuje głównie na pracach eksperymentalnych. W mojej opinii bardzo istotnym wynikiem jest brak wpływu stanu zapalnego wyrażonego stężeniem CRP na stężenie hepcydyny, erytoferronu i BMP-6. Być może pozwoli to w przyszłości na wykorzystanie tych parametrów w diagnostyce niedokrwistości niezależnie od aktywności NChZJ.

Podsumowując, opracowane wyniki wskazują na umiejętności Doktorantki odnośnie prawidłowego przeprowadzenia samodzielnego zadania badawczego i właściwego zrealizowania tego projektu.

Dyskusja jest przeprowadzona wzorowo i odwołuje się do adekwatnie dobranego piśmiennictwa. Na uwagę zasługuje dogłębne przeanalizowanie i rzeczowe uzasadnienie otrzymanych wyników. Zwraca ponadto uwagę biegłość z jaką porusza się Doktorantka w analizowanym przez siebie temacie. Autorka merytorycznie przedstawia prawdopodobne patomechanizmy leżące u podstaw swoich obserwacji. W dyskusji Doktorantka nie tylko podsumowuje uzyskane przez siebie wyniki, ale dokonuje też ich interpretacji i porównania do nielicznych przecież danych literaturowych w tym temacie. Wielowątkowa tematyka dyskusji świadczy o ogromnej wiedzy Autorki i jej właściwym wykorzystaniu.

Zwieńczeniem pracy jest 6 wniosków, które stanowią syntetyczne podsumowanie najważniejszych wyników wraz z ich interpretacją. Co istotne, zawarte wnioski w pełni odpowiadają na postawione cele badawcze. Niosą też ze sobą pewne implikacje kliniczne.

Wybór literatury cytowanej w rozprawie jest bardzo dobry i świadczy o doskonałej znajomości piśmiennictwa w wybranym przez Autorkę temacie, jak również o jego trafnym wykorzystaniu.

Podsumowanie

Podsumowując, przedstawioną do oceny rozprawę doktorską lekarz Małgorzaty Woźniak oceniam bardzo pozytywnie. Zaplanowane i zrealizowane przez Doktorantkę badanie podkreśla niezmiernie złożony mechanizm niedokrwistości w przebiegu NChZJ. Co więcej wyniki tego badania mają istotne odniesienie do praktyki klinicznej. Doktorantka potwierdziła fakt częstego występowania niedokrwistości u chorych z NChZJ, jak również wpływ anemii na przebieg kliniczny choroby. Autorka wykazała ograniczoną wartość aktualnie stosowanych wskaźników określających gospodarkę żelaza w organizmie i potrzebę dalszych badań nad nowymi parametrami, takimi jak prezentowane w pracy erytroferron i BMP-6.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarz Małgorzaty Woźniak pt. „Rozpoznanie różnicowe niedokrwistości w przebiegu nieswoistych chorób zapalnych jelit na podstawie analizy parametrów laboratoryjnych” stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego i spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.) oraz art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm). W związku z powyższym mam zaszczyt przedstawić Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi **wniosek o dopuszczenie lekarz Małgorzaty Woźniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Dr hab. n. med. Jarosław Daniluk

Z-ca KIEROWNIKA
Kliniki Gastroenterologii
i Chorób Wewnętrznych

dr hab. n. med. Jarosław Daniluk