

Łódź, 26 kwietnia 2016r.

**Recenzja Rozprawy Doktorskiej  
Moniki Terleckiej**

**pt.: "Ocena przydatności klinicznej rozpuszczalnego urokinazowego receptora aktywatora  
plazminogenu suPAR w monitorowaniu stanu pacjentów leczonych  
w Oddziale Intensywnej Terapii"**

Pacjenci w ciężkiej sepsie leczeni w oddziale intensywnej terapii stanowią, mimo znaczących postępów wiedzy, ciągle bardzo trudny problem diagnostyczno – terapeutyczny. Wynika to ze złożoności mechanizmów rozwijającej się niewydolności wielonarządowej, uogólnionej reakcji zapalnej i częstych trudności z identyfikacją czynnika (patogenu) zakaźnego. Trudności dotyczą nie tylko diagnostyki i leczenia, ale również monitorowania skuteczności postępowania terapeutycznego i rokowania. Istotą działań w OIT u tych chorych jest więc ustalenie algorytmu postępowania terapeutycznego. Do tego celu wykorzystuje się skale ciężkości zaburzeń np. APACHE II, SOFA.

Wydaje się więc, że poszukiwanie przez doktorantkę nowych metod czy testów do monitorowania i prognozowania przebiegu sepsy jest wysoce zasadne. Jak podkreśliła w swojej pracy doktorantka ilościowe oznaczenie stężenia suPAR we krwi (surowicy lub w osoczu) człowieka pozwala na ocenę stanu zdrowia u ludzi bez widocznych objawów choroby. W piśmiennictwie wykazano też, że u chorych w sepsie suPAR stanowi dobry marker rokowania. Tym samym można przyjąć założenie, że ocena stężeń suPAR we krwi powinna wykazać się dobrą przydatnością kliniczną w monitorowaniu przebiegu choroby i niepomyślnego rokowania u chorych leczonych w OIT z powodu sepsy. Szczególnie interesująca wydawała się doktorantce ocena predykcyjnych właściwości suPAR u pacjentów chorych na sepsę.

Rozprawa doktorska Moniki Terleckiej napisana jest dobrą polszczyzną, wykonana starannie metodycznie i przedstawiona w czytelnej szacie graficznej. Praca zawiera 105 stron, 9 rozdziałów z podrozdziałami, w tym wstęp, geneza i cel pracy, materiał i metody badawcze, wyniki badań i omówienie, dyskusję, wnioski, streszczenie, piśmiennictwo i załączniki.

Doktorantka redagując rozprawę zachowała właściwe proporcje pomiędzy głównymi rozdziałami pracy, ilustrując ją 48 rycinami i 17 tabelami oraz bardzo ułatwiającym czytanie rozprawy wykazem skrótów. Piśmiennictwo zawiera 122 pozycje w zdecydowanej większości anglojęzyczne, starannie dobrane, aktualne, umiejętnie i ze znanstwem zagadnienia cytowane w tekście rozprawy przez doktorantkę. Wnioski w liczbie 5 wynikają z pracy.

Doktorantka postawiła za cel pracy oszacowanie przydatności klinicznej u pacjentów leczonych w Oddziale Intensywnej Terapii oznaczeń suPAR we krwi do monitorowania i prognozowania przebiegu chorób o różnej etiologii ze szczególnym uwzględnieniem sepsy.

Założyła, że badanie porównawcze suPAR z uznanymi laboratoryjnymi markerami monitorowania i rokowania przebiegu sepsy tj.: stężeniem CRP, stężeniem PCT, liczbą krwinek białych (WBC) oraz skalą APACHE II pozwolą na ocenę jego przydatności klinicznej.

Dla realizacji celu pracy, doktorantka wykonała badanie porównawcze suPAR z innymi parametrami septycznymi (CRP, PCT, WBC, APACHE II) u pacjentów leczonych w OIT a w szczególności dynamiki zmian stężeń suPAR w odniesieniu do wymienionych wyżej parametrów w przebiegu hospitalizacji, zmiany stężeń suPAR i badanych parametrów na tle stanu klinicznego pacjentów na początku i na końcu hospitalizacji; zdolności predykcyjnej suPAR i wymienionych parametrów w rokowaniu stanu klinicznego pacjentów na podstawie jego stężeń w czasie rozpoczęcia hospitalizacji; mocy diagnostycznej suPAR i badanych parametrów dla oszacowania prawdopodobieństwa pomyślnego/niepomyślnego przebiegu chorób o różnej etiologii.

Do badań doktorantka zakwalifikowała 64 chorych (określana w pracy jako główna grupa badanych-0) hospitalizowanych w OIT USK- Centralnego Szpitala Weteranów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach od 02.2011 do 05.2012 roku. Zgodę na badania udzieliła Komisja Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wstępnie z badań wyłączono chorych, u których przed hospitalizacją rozpoznano chorobę nowotworową, ciężkie uszkodzenie wątroby lub nerek oraz zespół zależności alkoholowej. W tych stanach bowiem, jak wykazano, dochodzi zazwyczaj do aktywacji układu immunologicznego i wzrostu stężenia suPAR.

Całą grupę badanych osób doktorantka podzieliła na różne grupy i podgrupy w zależności od realizowanego etapu badań.

Grupę Z (zmarli z różnych przyczyn) stanowiło 33 pacjentów (14 kobiet i 19 mężczyzn) w wieku od 17 do 74 lat (średnio 56,4 lat) zmarłych w czasie hospitalizacji w OIT. Czas hospitalizacji wynosił od 3 do 24 dób (średnio 10 dób).

W oparciu o analizę historii choroby, badania laboratoryjne hematologiczne i biochemiczne oraz bakteriologiczne grupę Z podzielono na dwie podgrupy: podgrupę ZS i ZN.

Podgrupę ZS (Zmarli-Sepsa), stanowiło 23 z 33 zmarłych pacjentów - 10 kobiet i 13 mężczyzn w wieku od 27 do 69 lat (średnio 56 lat). Czas hospitalizacji wynosił od 5 do 24 dób (średnio 12,6 doby). W podgrupie tej - 6 pacjentów było chorych na sepsę lub stwierdzono u nich wstrząs septyczny (potwierdzone dodatnim posiewem krwi); - oraz 17 pacjentów, których stan kliniczny potwierdzał sepsę (SIRS wraz z zakażeniem ogólnoustrojowym nie potwierdzonym dodatnim posiewem krwi, lecz potwierdzonym badaniem bakteriologicznym z ogniska zakażenia).

Podgrupę ZN (Zmarli - Nie sepsa) stanowiło 10 z 33 pacjentów (4 kobiety i 6 mężczyzn) w wieku od 17 do 74 lat (średnio 56,6 lat). W tej podgrupie wszyscy pacjenci zmarli z innych przyczyn niż sepsa, czas hospitalizacji wynosił od 3 do 17 dób (średnio 7,5 doby). U chorych z podgrupy ZN w czasie hospitalizacji odnotowano pojedyncze dodatnie posiewy z różnych ognisk zakażenia, które opanowano efektywną terapią i nie rozwinął się zespół zakażenia ogólnoustrojowego.

Grupę P (pacjenci, którzy Przeżyli), stanowiło 31 pacjentów leczonych w OIT 10 kobiet i 21 mężczyzn w wieku od 27 do 69 lat (średnio 47,3 lat). Czas hospitalizacji wynosił od 3 do 26 dób (średnio 9,5 doby). Wszyscy pacjenci tej podgrupy przeżyli, po uzyskaniu poprawy stanu klinicznego zostali przeniesieni do innych oddziałów szpitalnych lub zostali wypisani ze szpitala. W oparciu o analizę historii choroby, badania laboratoryjne i bakteriologiczne grupę P podzielono na dwie podgrupy: podgrupę PS i PN.

Podgrupę PS (Przeżyli-Sepsa), stanowiło 10 z 31 chorych (5 kobiet i 5 mężczyzn) w wieku od 31 do 63 lat (średnio 47,7 lat). W podgrupie tej: u 3 chorych rozpoznano sepsę potwierdzoną dodatnim posiewem krwi - stan pozostałych 7 pacjentów wskazywał na sepsę nie potwierdzoną dodatkowymi posiewami krwi.

Podgrupę PN (Przeżyli-Nie sepsa) tworzyło 21 z 31 chorych (5 kobiet i 16 mężczyzn) w

wieku od 27 do 69 lat (średnio 46,9 lat), czas hospitalizacji wynosił od 3 do 20 dób (średnio 8,7 doby). W podgrupie tej u 7 pacjentów rozpoznano SIRS bez zakażenia oraz u 14 pacjentów rozpoznano SIRS i zakażenie miejscowe, które opanowano efektywną terapią i nie rozwinął się zespół zakażenia ogólnoustrojowego. Posiewy krwi wykonano u 4 z 21 pacjentów z podgrupy PN. Wszystkie były jałowe.

W badaniu przydatności klinicznej oznaczeń badanych parametrów (suPAR, CRP, APACHE II, WBC, PCT) dla predykcji niepomyślnego przebiegu choroby z użyciem krzywych ROC utworzono dodatkowo 2 grupy: grupę S-wszystkich badanych, którzy chorowali na sepsę (suma pacjentów z podgrup PS i ZS) oraz grupę N (ogół pacjentów nie chorujących na sepsę (suma z podgrup PN i ZN).

Grupa S (sepsa) składała się z 33 pacjentów (15 kobiet i 18 mężczyzn) w wieku 27-69 lat, średnio 53 lata. U żadnego pacjenta tej grupy nie rozpoznano sepsy przy wejściu (A), u wszystkich pacjentów sepsa została stwierdzona w czasie hospitalizacji w OIT. 23 pacjentów tej grupy zmarło w czasie pobytu w OIT (podgrupa ZS), pozostałych 10 osób przeżyło sepsę (podgrupa PS).

Grupę N (nie-sepsa) tworzyło 31 osób (9 kobiet i 22 mężczyzn w wieku 17 - 74 lata, średnio 51 lat. 10 osób z tej grupy zmarło w czasie pobytu w OIT (podgrupa ZN), pozostałych 21 osób przeżyło (podgrupa PN).

Materiał do badań stanowiła krew żylna pobierana rutynowo z dostępnych naczyń obwodowych w objętości niezbędnej dla wykonania planowych i zleczanych przez lekarza badań laboratoryjnych koniecznych w trakcie hospitalizacji chorego. Krew od pacjentów pobierano w zależności od stanu chorego codziennie lub co drugi dzień, stosując systemy aspiracyjno-próżniowe firmy Sarstedt. Krew pobierano do probówek:

- probówko-strzykawki z antykoagulantem K2EDTA w celu oznaczenia morfologii krwi oraz stężenia suPAR
- probówko-strzykawki z aktywatorem wykrzepiania - Serum Gel Z w celu oznaczenia podstawowych badań biochemicznych do prowadzenia diagnostyki i kontrolowania przebiegu choroby w czasie hospitalizacji.

Osocze krwi było uzyskiwane z pozostałej po wykonaniu do celów terapeutycznych rutynowych badań morfologicznych. Pobraną krew po odwirowaniu w odpowiednich warunkach (3000 obr/min. przez 15 min.), mrożono i przechowywano w temperaturze -70°C. Materiał

przechowywano przez okres do 6 miesięcy od momentu pobrania pierwszej próbki do czasu wykonania oznaczeń. Parametry biochemiczne oznaczano u wszystkich chorych w surowicy w ciągu do 1 h od pobrania krwi w celu monitorowania przebiegu choroby.

Doktorantka oznaczenia laboratoryjne (biochemiczne, hematologiczne i bakteriologiczne) wykonała w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej i Biochemii Klinicznej USK im. WAM - Centralnego Szpitala Weteranów. Badania wykonano na zlecenie lekarzy OIT a wyniki były wykorzystywane w procesie leczenia w OIT. Wyjątek stanowiło oznaczanie suPAR. Wyniki badań stężeń suPAR bowiem nie były udostępnione lekarzom w procesie terapeutycznym na OIT, test ten bowiem nie uzyskał jeszcze statusu badania dopuszczonego do zastosowania klinicznego.

Oznaczenia stężenie prokalcytoniny - PCT wykonano metodą elektrochemii- luminescencji - ECLIA przy pomocy zestawu odczynników firmy ROCHE. Deklarowana przez producenta precyzja metody określana współczynnikiem zmienności CV dla średniej wartości niskich stężeń PCT (<0,06ng/mL) wynosi 8,8%, zaś dla wyższych stężeń wynosiła 2,1%. Oznaczenia wykonano zużyciem analizatora Cobas e-411.

Oznaczenia stężenia CRP wykonano metodą immunoturbidymetryczną z buforem tris i przeciwciałami - anty CRP przy pomocy zestawu odczynników firmy Beckman Coulter nr kat. OSR6299.

Oznaczenie stężenia jonów sodu (Na<sup>+</sup>), potasu (K<sup>+</sup>) i chlorków (Cl<sup>-</sup>) (ISE, AU680, Beckman Coulter), wykonano metodą potencjometrii pośredniej z wykorzystaniem elektrody jonoselektywnej ISE firmy Beckman Coulter. Oznaczenia wykonano przy użyciu analizatora AU680, Beckman Coulter.

Oznaczenie stężenia kreatyniny wykonano metodą kinetyczną z alkalicznym pikrynianem, skompensowaną, zgodną z IDMS przy użyciu zestawu odczynników firmy Beckman Coulter. Oznaczenia wykonano zużyciem analizatora AU680, Beckman Coulter).

Oznaczenia parametrów równowagi kwasowo-zasadowej: pH - wykonano metodą z wykorzystaniem elektrody jonoselektywnej ISE, prężność dwutlenku węgla (pCO<sub>2</sub>) - z wykorzystaniem elektrody Severinghaus'a, prężność tlenu (pO<sub>2</sub>) - z wykorzystaniem elektrody Clarka, przy użyciu zestawu odczynników firmy Siemens oraz standardowe stężenie dwuwęglanów - (HCO<sub>3</sub>-st.), właściwe stężenie dwuwęglanów - (HCO<sub>3</sub>- akt.), nadmiar zasad - (BE), całkowity dwutlenek węgla - (ctCO<sub>2</sub>), wysycanie tlenem - (O<sub>2</sub>SAT) - parametry

wyliczane, z użyciem analizatora Rapidlab 1260, firmy Siemens).

Oznaczenia morfologii krwi dokonano przy użyciu analizatora hematologicznego model Advia 2120 firmy Siemens przy wykorzystaniu odczynników tej samej firmy.

Oznaczenia stężenia suPAR dokonano przy użyciu zestawu suPARnostic Flex, z wykorzystaniem metody ELISA, firmy ViroGates, precyzja metody wynosiła CV=6,1% po zebraniu odpowiedniej liczby próbek krwi oznaczano w rozmrożonym osoczu, w serii w jednym dniu.

Doktoranta w oparciu o wyniki przeprowadzonych badań wysunęła następujące wnioski:

1. Wysokość stężenia suPAR we krwi odzwierciedla stan kliniczny chorego.
2. suPAR w monitorowaniu i rokowaniu stanu klinicznego pacjenta jest parametrem niezależnym w odniesieniu do CRP, WBC i APACHE II score.
3. Obserwacja dynamiki stężeń suPAR we krwi w przebiegu choroby jest klinicznie przydatna do jej monitorowania i rokowania. W przebiegu niepomyślnym choroby dynamikę suPAR charakteryzuje systematyczny wzrost od przyjęcia (wejścia) pacjenta do OIT aż do jego śmierci (wyjścia) z małymi wahaniami międzydobowymi. Odmiennie, przy pomyślnym leczeniu stężenie suPAR spada od wejścia aż do końca hospitalizacji.
4. Oznaczanie stężeń suPAR wykazuje większą przydatność kliniczną w predykcji niepomyślnego przebiegu choroby w porównaniu do uznanych i powszechnie stosowanych markerów jak APACHE II score i CRP.
5. Dobre własności predykcyjne w rokowaniu niepomyślnego przebiegu choroby suPAR ujawnia już w czasie pierwszych dni pobytu pacjenta w OIT. Oznaczanie stężenia suPAR w tym czasie może dać wskazówkę lekarzowi dla zapewnienia choremu najlepszych z możliwych warunków leczenia lub przeniesienia pacjenta do OIT o wyższym poziomie referencyjnym.

Wysunięte wnioski wynikają z przeprowadzonych badań a istotne w recenzowanej pracy jest to, że doktorantka ostatecznie wykazała, że oznaczanie stężenia suPAR u chorych hospitalizowanych w OIT wykazuje dobrą przydatność kliniczną w monitorowaniu przebiegu choroby. W szczególności wykazuje pożądane własności w zakresie predykcji niepomyślnego rokowania pacjenta w czasie leczenia w OIT.

Recenzowana rozprawa jest samodzielnie przeprowadzoną oryginalną pracą badawczą, potwierdzającą dobre przygotowanie Moniki Terleckiej do pracy naukowej. Doktorantka

pokazała dobry warsztat badawczy, interesującą i merytoryczną dyskusję wokół postawionego celu pracy, umiejętność realizacji i wyboru właściwych metod badawczych, trafnego wyciągnięcia wniosków. Nie mam uwag krytycznych do przedstawionej mi do oceny rozprawy. Praca jest interesującym studium badawczym i ma ważne implikacje kliniczne. Spełnia wymogi ustawy o stopniach naukowych.

Przedstawiam wniosek wysokiej Radzie Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Moniki Terleckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego, jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy ( w załączeniu wniosek).

KIEROWNIK  
Katedry Anestezjologii i Intensywnej Terapii  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

*Prof. dr hab. med. Wojciech Gaszyński*

Klinika Anestezjologii Intensywnej Terapii  
i Leczenia Bólu  
Katedry Anestezjologii i Intensywnej Terapii  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi,  
USK nr 1 im. N. Barlickiego

90-153 Łódź, ul. Kopcińskiego 22  
e-mail: wojciech.gaszynski@umed.lodz.pl  
tel. (042) 678 37 48, 677 66 40,  
fax. (042) 678 37 48, 677 66 40  
www.umed.pl | www.umed.lodz.pl/anestezja.pl

