

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Michała Kolejwy  
pt. „Udział ghreliny, obestatyny i kwasu glutaminowego  
oraz właściwych im receptorów w patogenezie choroby  
zaparciowej u dzieci”.**

Zgodnie z uchwałą Rady Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki” z dnia 27 września 2023 roku przedstawiam ocenę rozprawy doktorskiej lek. Michała Kolejwy.

Przedstawiona mi do recenzji praca zawarta jest na 101 stronach, ma układ typowy dla rozpraw na stopień doktora nauk medycznych, podzielona jest na rozdziały: wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Do pracy dołączony jest wykaz skrótów, wykaz rycin i tabel oraz bibliografia zawierająca 143 pozycje piśmiennictwa prawidłowo cytowane w pracy.

Wstęp do pracy jest bardzo dobrze przedstawiony, kompetentnie wprowadza czytającego w badane zagadnienie będące tematem rozprawy w którym Doktorant pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Elżbiety Czekwianianiec omawia epidemiologię zaparcia stolca u dzieci, kryteria Rzymskie zaparcia czynnościowego, fazy mechanizmu defekacji, omawia szczegółowo udział enterohormonów w patogenezie zaparcia stolca – ghreliny, obestatyny oraz glutamianu.

Słusznie zauważa, że dotychczas nie przeprowadzono badań wyjaśniających relacje enterohormonów z patogenezą czynnościowego zaparcia stolca. Zatem temat pracy na stopień doktora nauk medycznych lek. Michała Kolejwy uważam za słuszny i pożądany.

Celem pracy było ustalenie udziału wybranych enterohormonów (ghreliny, obestatyny), odpowiednich dla nich receptorów (GHS-R, GPR39) oraz receptora metabotropowego glutamianu (mGlu7) w patogenezie przewlekłej choroby zaparciowej u dzieci.

Cele szczegółowe.

Cele pierwszorzędowe:

1. zbadanie wpływu ghreliny na motorykę przewodu pokarmowego u dzieci,
2. zbadanie wpływu obestatyny na motorykę przewodu pokarmowego u dzieci,

3. ustalenie wzajemnej zależności pomiędzy ghreliną a obestatiną i ich wpływem na motorykę przewodu pokarmowego,
4. ustalenie wpływu receptora metabotropowego 7 dla glutaminianu w regulowaniu motoryki przewodu pokarmowego u dzieci.

Cele drugorzędowe:

1. Wyodrębnienie postaci czynnościowego zaparcia stolca u dzieci z wydłużeniem pasażu jelita grubego (colonic inertia), postać retencyjną (outlet obstruction) i postać mieszaną.

Badanie przeprowadzono zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Instytucie „Centrum Zdrowia Matki Polki”.

Badanie było finansowane ze środków pozyskanych z Narodowego Centrum Nauki – grant 2011/01/B/NZ/0016.

Do badania zakwalifikowano łącznie 255 pacjentów w wieku 4–17 lat hospitalizowanych w latach 2009–2013 w Klinice Gastroenterologii, Alergologii i Pediatrii ICZMP w Łodzi. Ostatecznie do badania włączono 150 pacjentów w tym 114 z zaparciem stolca i 36 z przewlekłymi bólami brzucha bez zaparcia stolca. Przedstawiono dokładnie kryteria włączenia i wyłączenia.

Metodyka badania szczegółowo przedstawiona – nie budzi moich zastrzeżeń.

Wyniki swoich badań Doktorant przedstawił bardzo dokładnie w formie opisowej, zilustrował na 10 rycinach oraz zebrał w 5 tabelach.

Jak słusznie pisze Doktorant, wszystkie badania, które dotychczas pojawiły się w piśmiennictwie były przeprowadzone na modelach zwierzęcych lub dotyczyły osób dorosłych.

Zatem można stwierdzić, że są to badania **pionierskie** – wyjaśniające relacje enterohormonów z patogenezą czynnościowego zaparcia stolca u pacjentów w wieku rozwojowym.

Ważny jest wynik stwierdzający wyższe stężenie ghreliny w osoczu dzieci z zaparciem stolca w stosunku do badanych bez zaparcia – negatywna korelacja pomiędzy stężeniem ghreliny a czasem pasażu jelitowego. Potwierdzono większy stosunek wartości stężeń.

Nie zaobserwowano istotnej statystycznie różnicy w medianach wartości stężeń obestatyny pomiędzy grupami ( $p=0,297$ ) ghreliny do obestatyny u pacjentów z zaparciem stolca w porównaniu do pacjentów z grupy porównawczej (72,83 vs. 129,58,  $p=0,01$ ).

Stwierdzono wyższe średnie wartości ekspresji mRNA receptorów dla mGlu7 w biopsjach pobranych z błony śluzowej żołądka dzieci z zaparciem stolca niż u dzieci bez zaparcia (32,28 vs. 31,44,  $p=0,03$ ), natomiast w biopsjach pobranych z błony śluzowej odbytnicy zaobserwowano odwrotną zależność tj. znacznie niższe wartości ekspresji u pacjentów z zaparciem stolca w porównaniu do grupy porównawczej (931,2 vs. 32,4,  $p<0,05$ ).

Zaobserwowano wyższe średnie wartości ekspansji mRNA receptora dla ghreliny w biopsjach pobranych z odbytnicy dzieci z zaparciem stolca, w porównaniu do grupy porównawczej, bez zaparcia (29,35 vs. 28,25,  $p < 0,05$ ).

W grupie dzieci z rozpoznaniem zaparciem stolca stwierdzono u ponad połowy pacjentów (64,9%) poszerzenie bańki odbytnicy oraz zwolniony pasaż jelitowy. U ¼ badanych dzieci (25,4%) zaobserwowano poszerzoną bańkę odbytnicy z prawidłowym pasażem jelitowym, w pozostałych przypadkach (96%) stwierdzono wydłużony pasaż jelitowy oraz prawidłowe wymiary bańki odbytnicy.

Na podstawie wyników badania stężenia ghreliny (istotnie niższe stężenie ghreliny u dzieci z zaparciem niż w grupie porównawczej oraz silna negatywna korelacja stężenia ghreliny z czasem pasażu jelitowego) wykazano prokinetyczną rolę ghreliny dla żołądka i jelit u dzieci.

Pomimo, że nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy stężeniem obestatyny u dzieci w grupie badanej i porównawczej, dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem obestatyny w surowicy a czasem pasażu jelitowego u dzieci z zaparciem przemawia za hamującą rolą obestatyny w zakresie pasażu treści przez przewód pokarmowy.

Istotnie statystycznie obniżona ekspresja genu receptora metabotropowego 7 w błonie śluzowej odbytnicy u dzieci z chorobą zaparciową w stosunku do grupy porównawczej przemawia za udziałem tego receptora w regulowaniu motoryki przewodu pokarmowego.

**W pracy potwierdzono złożoność mechanizmów czynnościowego zaparcia stolca u dzieci, polegającą na spowolnieniu pasażu jelitowego (colonic interia), na retencji stolca (outlet obstruction) oraz postać mieszaną. Nie odnotowano wpływu badanych enterohormonów na poszczególne postacie zaparcia.**

Uzyskane wyniki pozwoliły na postawienie 5 ważnych wniosków z wykonanych badań:

1. Na podstawie wyników badania stężenia ghreliny (istotnie niższe stężenie ghreliny u dzieci z zaparciem niż w grupie porównawczej oraz silna negatywna korelacja stężenia ghreliny z czasem pasażu jelitowego) wykazano prokinetyczną rolę ghreliny dla żołądka i jelit.
2. Pomimo, że nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w stężeniu obestatyny u dzieci w grupie badanej i kontrolnej, dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem obestatyny w surowicy a czasem pasażu jelitowego u dzieci z zaparciem przemawia za hamującą rolą obestatyny w zakresie pasażu treści przez przewód pokarmowy.
3. Stosunek stężeń ghreliny do obestatyny jest znacząco wyższy u dzieci z chorobą zaparciową niż w grupie porównawczej, co pozwala na spekulację co do różnicy w wariantach splicingowych cząsteczki preproghreliny u pacjentów z zaparciem stolca.

4. Istotnie statystycznie obniżona ekspresja genu receptora metabotropowego 7 w błonie śluzowej odbytnicy u dzieci z chorobą zaparciową w stosunku do grupy kontrolnej przemawia za udziałem tego receptora w regulowaniu motoryki przewodu pokarmowego.
5. W pracy potwierdzono złożoność mechanizmów czynnościowego zaparcia stolca u dzieci, polegającą na spowolnieniu pazażu jelitowego (colonic inertia), na retencji stolca (outlet obstruction) oraz postać mieszaną. Nie odnotowano wpływu badanych enterohormonów na poszczególne postaci zaparcia. Jednak rozpoznanie typu zaparcia stolca jest istotne, gdyż determinuje wybór odpowiedniej terapii (np. leki prokinetyczne z makrogole, same makrogole lub tylko leki prokinetyczne).

Dyskusja bardzo cenna i ważna w tej pracy jest prowadzona rzetelnie i merytorycznie.

Podsumowując stwierdzam, że badanie przeprowadzone przez lek. Michała Kolejwę pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Elżbiety Czekwianianc są pierwszymi, które opisują jednocześnie udział gherliny, obestatyny oraz ich receptorów w patogenezie czynnościowego zaparcia stolca u dzieci, co można tak stwierdzić ponieważ badania wykazały u pacjentów w wieku rozwojowym udział receptorów metabotropowych 7 dla glutaminianu w motoryce przewodu pokarmowego.

Słusznie Doktorant podkreśla na podstawie uzyskanych wyników badań własnych, że można potwierdzić tezę o istotnej roli gherliny, obestatyny i glutaminianu w patogenezie czynnościowego, przewlekłego zaparcia stolca u dzieci i młodzieży.

Ważnym jest stwierdzenie, że gherlina i jej receptor (GHS-R) są silnym modulatorami wzmagającymi perystaltykę dolnego odcinka przewodu pokarmowego oraz udział obestatyny w wydłużeniu czasu pasażu jelitowego.

Badania lek. Michała Kolejwy są ważnym wynikiem badań własnych w trudnej kwestii coraz częstszego problemu gastroenterologicznego jakim jest zaparcie stolca również w wieku rozwojowym.

Zatem mogę stwierdzić, że praca lek. Michała Kolejwy jest ciekawym, bardzo dobrze zaplanowanym i wzorowo zrealizowanym studium naukowym, które ma wysoką wartość poznawczą. Uzyskane wyniki badań powinny skłonić do zastosowania tych badań w praktyce, jeśli będą te badania dostępne w naszej praktyce gastroenterologicznej i pediatrycznej co przełożyło by się na postępowanie praktyczne.

Rozprawa została przygotowana starannie również pod względem graficznym.

Doktorant wykazał się bardzo dobrą znajomością naukowej wiedzy teoretycznej w zakresie przedmiotu rozprawy o czym świadczy kompetentnie przygotowany wstęp pracy oraz dyskusja.