

Bydgoszcz, dnia 22.08.2022 r.

Dr hab. n. med. Anna Stefanska, prof. UMK
Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Dągmary Przekop pt. "Nieinwazyjne testy w diagnostyce włóknienia w przebiegu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C oraz uszkodzenia wątroby w zakażeniu SARS-CoV-2".

Praca realizowana w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem prof. dr hab. Lecha Chrostka

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska jest cyklem dwóch tematycznie powiązanych prac (oryginalnej i pogładowej) opublikowanych w roku 2021 o łącznej punktacji IF 7,415 i punktacji ministerialnej 240 pkt. W obu publikacjach Pani mgr Dągmara Przekop jest pierwszym autorem, a swój udział w przygotowanie publikacji ocenia na 55% i 60%.

Obie publikacje będące podstawą rozprawy doktorskiej tematycznie nawiązują do oceny przydatności wybranych nieinwazyjnych testów w zaburzeniach funkcjonowania wątroby, zatem mogą być traktowane jako jednolita praca naukowa.

Pierwsza publikacja jest pracą oryginalną opublikowaną w czasopiśmie *Journal of Clinical Medicine* z IF 4,242 (MNiSW: 140) i dotyczy oceny przydatności laboratoryjnych wskaźników włóknienia wątroby w ocenie skuteczności bezinterferonowego leczenia przewlekłego zapalenia wątroby typu C (WZWC).

Druga publikacja jest pracą pogładową opublikowaną w czasopiśmie *World Journal of Hepatology* z IF 3,173 (MNiSW: 100) i stanowi przegląd literatury pod kątem oceny przydatności laboratoryjnych testów oceniających funkcję wątroby (LFT) u pacjentów chorych na COVID-19.

W obu pracach doktorantka uczestniczyła w niemal każdym etapie przygotowania manuskryptu w tym w opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i przeglądzie literatury, interpretacji danych,

końcowym wnioskowaniu, napisaniu i przygotowaniu manuskryptów do publikacji. Jak również na cele pracy oryginalnej brała udział w oznaczeniach badanych parametrów.

Fakt, iż obie prace zostały opublikowane w czasopismach o randze międzynarodowej i wysokiej punktacji, oznacza, że treść tych prac została już oceniona przez zespoły redakcyjne oraz niezależnych recenzentów, co potwierdza zasadność wykonanych badań, właściwe ich zaplanowanie i finalną realizację.

Rozprawa doktorska została przygotowana zgodnie z zasadami przyjętymi dla tego typu opracowań naukowych. Całość tekstu liczy 88 stron i obejmuje: spis treści, wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej wraz z ich kopiami, wprowadzenie, cel pracy, opis materiału i metod badawczych oraz wyników. Całość pracy omówiona została na 7 stronach dyskusji i podsumowana w 6 wnioskach końcowych. Rozprawa opracowana została z użyciem 80 odnośników literaturowych, wśród których 68 % stanowią pracę z ostatnich 5 lat. Do pracy dołączono wymagane streszczenia i oświadczenia autora pracy i współautorów oraz zgodę komisji bioetycznej.

Wprowadzenie, postawione cele, dyskusja oraz końcowe wnioski przedstawione w rozprawie doktorskiej odnoszą się oddzielnie do każdej z dwóch prac będących podstawą tej rozprawy. W mojej opinii brakuje wspólnego mianownika w postaci wspólnego celu pracy (np. określenie celu zasadniczego i celów szczegółowych), wspólnego wniosku końcowego czy podsumowania, które scaliloby obie prace i stanowiło namacalne uzasadnienie włączenia ich do jednego cyklu publikacji.

W diagnostyce uszkodzenia wątroby złotym standardem jest wykonanie biopsji wątroby. Z uwagi na inwazyjność tej metody oraz możliwość wystąpienia tzw. „błędu próbki” od wielu lat poszukuje się i analizuje nieinwazyjne metody diagnostyczne, które mogą stanowić alternatywę dla biopsji. Obecnie uznana obrazową, nieinwazyjną metodą oceny stopnia zwłóknienia wątroby jest elastografia (FibroScan), która podobnie jak biopsja daje możliwość wyróżnienia stopni nasilenia włóknienia wątroby. Nieinwazyjnymi biomarkerami oceniającymi funkcję wątroby są także laboratoryjne markery, które mogą być stosowane jako pojedyncze testy lub w zestawach jako tzw. algorytmy np. wskaźniki włóknienia wątroby. Ocena funkcji wątroby jest szczególnie ważna w diagnostyce pacjentów z przewlekłym uszkodzeniem wątroby np. w przebiegu wirusowych zapaleń. Jest ona niezbędna w kwalifikacji do leczenia jak i ma znaczenie rokownicze. Zatem podjęcie tematu skupionego na ocenie przydatności laboratoryjnych wskaźników dysfunkcji wątroby w wybranych przez doktorantkę grupach

badanych ma istotne uzasadnienie naukowe jak i praktyczne z racji na nieinwazyjny charakter tych testów, łatwość wykonania oraz stosunkowo niski koszt (doktorantka skupiła się na rutynowo stosowanych markerach laboratoryjnych), Same omawiane markery laboratoryjne jak i opracowane na ich podstawie wskaźniki włóknienia wątroby (GAPRI, APRI, HIB-4 etc.) znane są od wielu lat i analizowane wśród pacjentów z uszkodzeniem wątroby o różnej etiologii, to nowatorski wydaje się dobór analizowanych grup pacjentów, czyli pacjenci z WZWC poddani leczeniu z użyciem bezinterferonowej terapii oraz pacjenci z COVID-19.

W przedstawionej rozprawie doktorskiej w pierwszej kolejności doktorantka przedstawiła opis pracy oryginalnej, w której analizie poddano 70 pacjentów z przewlekłym WZWC leczonych terapią bezinterferonową z zastosowaniem trzech leków Viekirax+Dezabuwir+Rybawiryna (VDR), z których 31 pacjentów było wcześniej bezskutecznie leczonych pegylowanym interferonem- α i rybawiryną. Celem tej pracy była analiza przydatności diagnostycznej 6 nieinwazyjnych markerów laboratoryjnych włóknienia wątroby (w postaci algorytmów) w ocenie nasilenia włóknienia wątroby przed i po zastosowaniu bezinterferonowej terapii oraz porównanie mocy diagnostycznej badanych algorytmów do złotego standardu, jakim jest biopsja wątroby. Jako cel dodatkowy oceniono i porównano skuteczność terapii bezinterferonowej na stan wirerii i nasilenia włóknienia u pacjentów leczonych wstępnie interferonem oraz uprzednio nieleczonych. W mojej opinii Autorka odpowiednio określiła cele badań, a wykonana analiza statystyczna była odpowiednia do postawionych celów i pozwoliła zweryfikować hipotezy badawcze oraz określić wnioski końcowe. Chociaż całościowo tą część pracy oceniam bardzo dobrze, jednak do niektórych jej elementów mam pewne uwagi lub sugestie, bądź mam niedosyt informacji. We wstępie publikacji zabrakło informacji, że nieinwazyjną metodą obrazową w ocenie włóknienia wątroby jest elastografia. Wstęp sugeruje czytelnikowi, że potencjalną alternatywą dla biopsji są tylko markery i algorytmy laboratoryjne. W metodyce brakuje informacji czy pobranie krwi, biopsja i FibroScan zostały wykonane w tym samym dniu, czy w jakimś odstępie czasu. Opis metod statystycznych nie obejmuje wszystkich analiz przedstawionych w sekcji wyniki np. krzywe ROC. Analizy statystyczne wyników wykonano w odniesieniu do skali włóknienia METAVIR uzyskanej z wyników elastografii (tak wskazuje metodyka). Dlaczego nie posłużono się skalą z biopsji wątroby, która jest złotym standardem? Wskazane jest uzasadnienie. Czy któraś tabela, rycina lub fragment tekstu podaje wyniki z biopsji? Jedynie w krzywych ROC dowiadujemy się, że wyniki z biopsji dają AUC równe 1,0 co wskazuje na idealną dyskryminację pacjentów klasyfikowanych według wyników z elastografii. Opis wyników krzywych ROC jest czasami nieco

nieprecyzyjny np. doktorantka porównuje moc diagnostyczną nieinwazyjnych biomarkerów z mocą diagnostyczną FibroScan, co sugeruje, że wyznaczono krzywą ROC dla wyników z FibroScan, a przecież te wyniki były zmienną grupującą, a krzywe AUC wyznaczono dla biopsji wątroby, APRI i GAPRI. Zastanawiam się również, dlaczego wyników z ROC nie poszerzono o wyznaczenie swoistości i czułości testów. W tabeli 1 manuskryptu w pierwszym wierszu powinna być wpisana zmienna wiek a nie płeć, jak również powinny zostać ujednolicone wielkości wartości liczbowych oraz użycie kropek i przecinków. Brakuje mi również analizy wieku i BMI w grupie nieleczonej i uprzednio leczonej bez podziału na płeć z tego względu, iż kolejne tabele odnoszą się głównie do takiego grupowania osób badanych. W tym kontekście również w tabeli 3 manuskryptu zasadne byłoby przedstawienie wartości odsetkowych z podziałem na grupę nieleczoną i uprzednio leczoną oraz policzenie istotności statystycznych dla różnic wyrażonych w procentach. W tabeli 4 manuskryptu posłużono się nieparametrycznym testem Manna-Whitneya dlatego uważam, że wyniki powinny być przedstawione w postaci mediany a nie średniej, tym bardziej że występują duże odchylenia standardowe. Warto by było również policzyć odsetki wyników poniżej wskazanego punktu odcięcia cut-off w badanych grupach, co dałoby lepszy obraz niż porównywanie do wartości średniej. Czy u wszystkich pacjentów w punkcie czasowym po 12 tygodniach wartości wskaźników APRI i GAPRI były poniżej cutt-off, bo tak sugeruje fragment dyskusji na str. 27 „APRI i GAPRI uzyskały wartości niższe od wartości odcięcia cutt-off”. Natomiast w oryginalnym manuskrypcie podsumowano to w stwierdzeniu, że jest bardziej prawdopodobne by wartości APRI i GAPRI były niższe od wartości cutt-off? Myślę, że należałoby to statystycznie uzasadnić i również statystycznie skonfrontować ze zmniejszoną częstością występowania wyników, które wskazują na zaawansowane włóknienie lub marskość po 12 tygodniach terapii według skali METAVIR. W mojej opinii mogłoby to dać lepszą podstawę do poparcia głównego wniosku z tej pracy, że nieinwazyjne laboratoryjne wskaźniki są nieprzydatne jako predyktory istotnego włóknienia wątroby po 12 tygodniowej terapii. W rozprawie doktorskiej pojawiły się również drobne nieścisłości edytorskie np. ujednolicenie skrótu dla wirusowego zapalenia wątroby typu C (HCV vs WZWC), strona 12 mediana BMI była w normie (zakres 12,9-43,1), a jaka jest mediana, skoro była w normie? Niezgodność dotycząca ilości alkoholu w 1 drinku 10g vs 14 g w manuskrypcie. Zdanie w rozprawie doktorskiej na str. 21 „Pod koniec terapii (po 12 tygodniach) korelacja biomarkerów włóknienia z wynikami elastografii była słabsza ($R < 0,4$), co nie koresponduje z tabelą 5 manuskryptu.

W przedstawionej rozprawie doktorskiej w drugiej kolejności doktorantka przedstawiła opis pracy poglądowej, w której powołując się na najnowszą literaturę wskazała na przydatność laboratoryjnych testów oceniających funkcję wątroby (LFT) u pacjentów z uszkodzeniem wątroby w przebiegu COVID-19. Również w tym przypadku doktorantka skupiła się na rutynowych i tanich markerach laboratoryjnych np. enzymach wątrobowych (AST, ALT, GGT), stężeniu bilirubiny, CRP, liczbie PLT. W mojej opinii przedstawiony do recenzji przegląd jest wyczerpujący i odpowiada na postawione cele. Doktorantka przedstawia dane literaturowe pochodzące z różnych populacji i omawia je wielokierunkowo. Ocenia stężenia LFT u pacjentów z COVID-19 z różnym typem uszkodzenia wątroby jak również przedstawia związek z płcią, wiekiem, zastosowanym leczeniem przeciwwirusowym. Analizuje również związek stężenia LFT z ciężkim przebiegiem COVID-19 oraz śmiertelnością. Mam jedynie uwagę do pojawiających się nielicznych literówek w tekście rozprawy doktorskiej.

Podsumowując, przedstawione w niniejszej pracy badania są nowatorskim osiągnięciem doktorantki, które mają duże znaczenie naukowe jak i praktyczne. Włączone do cyklu prace powiązane są tematycznie. Do każdej z prac zostały odpowiednio sformułowane cele, a przeprowadzone analizy statystyczne oraz przegląd literatury dały solidną podstawę do wysnucia prawidłowo sformułowanych sześciu wniosków końcowych. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska istotnie pogłębia wiedzę w aspekcie wykorzystania laboratoryjnych markerów uszkodzenia wątroby oraz algorytmów obliczonych z ich udziałem w grupach pacjentów z przewlekłym WZWC i COVID-19.

Wniosek końcowy: Rozprawa doktorska Pani mgr Dagmary Przekop pt. "Nieinwazyjne testy w diagnostyce włóknienia w przebiegu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C oraz uszkodzenia wątroby w zakażeniu SARS-CoV-2" spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce), w związku z powyższym wnioskuję do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pani mgr. Dagmary Przekop do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Podpis

ADIUNKT
Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej
S. Pawłowska Anna
dr hab. Anna Stefańska, prof. UMCM

