



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Zakład Medycyny Laboratoryjnej

Dr hab. n. med. Olga Ciepela
Zakład Medycyny Laboratoryjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny
Ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa
Tel. 22 5992405
e-mail: olga.ciepela@wum.edu.pl

Warszawa, 26.08.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej

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”

Promotor pracy: prof. dr hab. Lech Chrostek

Wątroba jest jednym z najważniejszych narządów, który spełnia szereg istotnych ról. Pełni funkcję syntetyczną, metaboliczną i magazynującą, a w życiu płodowym nawet krwiotwórczą. Zapewnia właściwie działanie układu pokarmowego, krzepnięcia, endokrynnego, odpornościowego i wydalniczego. Właściwa praca wątroby zapewnia homeostazę organizmu, dlatego tak istotne jest, aby jej funkcja pozostawała w pełni zachowana.

Wątroba może ulegać uszkodzeniu przez czynniki fizyczne, chemiczne i biologiczne. Do czynników biologicznych należą m.in. wirusy zapalenia wątroby czy inne, których hepatotropowość nie jest tak oczywista. Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV) może indukować przewlekłe zapalenie wątroby, jej marskość lub nawet rozwój raka wątrobowokomórkowego. W odróżnieniu od wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV), do tej pory nie została opracowana szczepionka chroniąca przed zachorowaniem na HCV. Po zachorowaniu na wirusowe zapalenie wątroby typu C, w celu uniknięcia znacznego uszkodzenia miększu wątroby, stosuje się leki ograniczające wiremię lub nawet niemal

całkowicie eradykujące wirusa. Stosowanie leków antyretrowirusowych o bezpośrednim działaniu na wirusa typu C, pozwala na uzyskanie nieoznaczalnej wiremii. Nie do końca jednak wiadomo, czy leki te pozwalają również na przywrócenie prawidłowej funkcji wątroby. Jednym z powikłań zakażenia HCV jest włóknienie wątroby, a jego diagnostykę prowadzi się najczęściej za pomocą inwazyjnej biopsji narządu. Dla komfortu i bezpieczeństwa pacjentów istotne jest opracowanie nieinwazyjnych testów, które w wiarygodny sposób będą pozwalały mierzyć postęp włóknienia wątroby.

W swojej pracy mgr Dagmara Przekop podjęła się zbadania i przedyskutowania niezwykle ważnego i aktualnego tematu jakim jest bezinwazyjna diagnostyka uszkodzenia wątroby w przebiegu zakażeń wirusowych – wirusem HCV oraz SARS-CoV-2 wywołującym COVID-19, a także przydatności badań laboratoryjnych krwi w ocenie stopnia włóknienia narządu u pacjentów leczonych terapią o bezpośrednim działaniu antyretrowirusowym. Wybór tematu pracy wydaje się więc być w pełni uzasadniony i aktualny, a jego ważkość – ogromna.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska ma charakter opracowania opartego o zbiór dwóch już opublikowanych monotematycznych artykułów naukowych. W skład zbioru wchodzi jedna praca oryginalna pełnotekstowa i jedna przeglądowa, w obu publikacjach autorka jest pierwszym autorem. Sumaryczny wskaźnik oddziaływania prac (IF) wynosi 7,415; a uzyskana liczba punktów ministerialnych to 240. Rozprawa składa się z teoretycznego wprowadzenia, celu pracy, rozdziału opisującego materiały i metody, omówienia wyników prac składających się na rozprawę, wykazu skrótów, piśmiennictwa, streszczeń w języku polskim i angielskim i załączników: kopii dwóch publikacji będących podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora, oświadczeń współautorów publikacji określających ich udział w pracy oraz oświadczenia Doktorantki. Doktorantka umieściła również, jako załącznik, pozytywną opinię właściwej Komisji Bioetycznej na temat przeprowadzanych eksperymentów.

W liczącym 3 strony wprowadzeniu Doktorantka opisuje podstawy teoretyczne swojej pracy, zapewniając właściwe wyjaśnienie prowadzonych przez siebie badań. W tej części pracy jedyna moja uwaga dotyczy nazw łacińskich rodziny i rodzaju wirusa zapalenia wątroby typu C, które powinny być zapisane kursywą.

Założenia i cele pracy zostały sformułowane w sposób jasny i odpowiadający założeniom metodologicznym pracy. Głównymi celami badawczymi było wykazanie przydatności nieinwazyjnych laboratoryjnych wskaźników włóknienia wątroby w ocenie skuteczności bezinterferonowego leczenia przewlekłego zapalenia wątroby typu C, porównanie mocy diagnostycznej nieinwazyjnych wskaźników włóknienia wątroby do mocy diagnostycznej inwazyjnej biopsji wątroby oraz porównanie skuteczności terapii bezinterferonowej u pacjentów leczonych wcześniej schematem interferon+rybawiryna i nieleczonych. Dodatkowo, Doktorantka za cel swojej pracy obrała przedstawienie przydatności testów oceniających funkcję wątroby u chorych na COVID-19 na podstawie dostępnej literatury.

Wyniki badań zostały przedstawione wyczerpująco w formie cyklu publikacji. Artykuły, wchodzące w skład rozprawy stanowią spójną całość, gdyż dotyczą nieinwazyjnej oceny funkcji wątroby w wybranych zakażeniach wirusowych.

W pracy oryginalnej *Przekop D, i wsp. Non-invasive indirect markers of liver fibrosis after interferon-free treatment for hepatitis C. J Clin Med 2021; 10(17):3951* Doktorantka wykazała, że 12-tygodniowe leczenie schematem Viekirax+Dezabuwir+Rybawiryna (VDR) skutecznie eradykuje wirusa zarówno w grupie pacjentów HCV wcześniej leczonych interferonem i nieleczonych. Pomimo usunięcia czynnika infekcyjnego do poziomu niewykrywalnego w rutynowych testach diagnostycznych metodą RT-PCR, Autorka wykazała różnicę dotyczącą sztywności wątroby pomiędzy obiema grupami – zaobserwowała bowiem, że w grupie leczonej schematem interferon+rybawiryna przed zastosowaniem leczenia bezinterferonowego, skuteczność zastosowanej terapii była większa. Leczenie schematem VDR skutkowało również zwiększeniem liczby wyników testu METAVIR wskazujących na brak lub umiarkowane włóknienie narządu, przy jednoczesnym zmniejszeniu liczby wyników wskazujących na zaawansowane włóknienie i marskość, co potwierdza skuteczność zastosowanej terapii. Po zastosowaniu 12-tygodniowego leczenia VDR istotnie obniżyła się aktywność enzymów wątrobowych w obu grupach badanych, takiej zmiany nie obserwowano jednak w przypadku oznaczenia stężenia bilirubiny całkowitej i cholesterolu. Ciekawą obserwację Doktorantka poczyniła wykazując, że stężenie albuminy zmniejszyło się istotnie jedynie w grupie, która była wcześniej leczona schematem włączającym interferon. W tym miejscu jednak muszę zadać Doktorantce pytanie. W grupie

pacjentów leczonych, jako maksymalną wartość stężenia albuminy podaje Pani 5 g/L, przy minimalnej 26,7 g/L. Podobnie jest zarówno w opracowaniu polskim jak i oryginalnej wersji publikacji. Proszę o wyjaśnienie, czy jest to błąd drukarski, czy też może doszło do omyłki? W dalszym etapie swoich badań Doktorantka wykazała istotną zmianę wskaźników opartych o ocenę markerów biochemicznych po 12-tygodniowej terapii bezinterferonowej (przede wszystkim wskaźnika APRI, w którym uwzględnia się aktywność AST i liczbę płytek krwi oraz wskaźnika GAPRI, w którym uwzględnia się aktywność GGTP i liczbę płytek krwi). Co ciekawe, wartości badanych wskaźników korelowały z wynikami elastografii w grupie przed leczeniem, ale po zastosowaniu leczenia wysoką korelację wykazano jedynie dla wskaźnika GAPRI. W kolejnej części pracy Doktorantka prowadzi dyskusję uzyskanych wyników, jednoznacznie wskazując, że wskaźniki APRI i GAPRI nie powinny być stosowane jako predyktory istotnego zwłóknienia wątroby, ponieważ ich moc diagnostyczna jest słabsza od testów inwazyjnych i obrazowych. Autorka również tłumaczy, dlaczego obserwuje się rozbieżności między wskaźnikami biochemicznymi a wynikami elastografii po leczeniu i dlaczego obserwuje się istotną zmianę biomarkerów biochemicznych przy niewielkiej zmianie sztywności narządu. Dyskusja wyników prowadzona jest niezwykle płynnie, jasno, dzięki czemu czytelnik może w pełni zrozumieć wyniki przedstawianych badań. W tej części mam jedynie uwagę do polskiej wersji pracy, w której Doktorantka pisze na stronie 28, że „nieinwazyjne biomarkery włóknienia wątroby w swoich wzorach zawierają enzymy, które wskazują na uszkodzenie hepatocytów”. Zdaniem recenzenta bardziej właściwe byłoby zastosowanie określenia „wyniki aktywności enzymów”.

Na końcu pracy Doktorantka prezentuje swoje wnioski, które w pełni odzwierciedlają uzyskane wyniki. Sama redakcja rozdziału „Wnioski” zasługuje na podkreślenie, ponieważ Doktorantka uniknęła błędu początkujących naukowców, którzy często zamiast wniosków przedstawiają podsumowanie wyników. Świadczy to o dużej dojrzałości naukowej pani mgr Dagmary Przekop i zwiększa wartość pracy.

W drugim artykule, który wchodzi w skład rozprawy doktorskiej *Przekop D, i wsp. Liver function in COVID-19 infection. World J Hepatol 2021; 13(12):1909-1918* Doktorantka podjęła się przeglądu doniesień dotyczących markerów uszkodzenia wątroby u pacjentów zakażonych wirusem SARS-CoV-2. W pierwszej kolejności pragnę podkreślić aktualność podejmowanego tematu, ponieważ wciąż trwamy w pandemii COVID-19 i wszelkie obserwacje z nią związane są niezwykle cenne, ponieważ mogą pomóc w leczeniu pacjentów dotkniętych tą chorobą. W publikacji Doktorantka szczegółowo opisuje cechy zakażenia

SARS-CoV-2, podejmuje się próby wyjaśnienia patomechanizmu uszkodzenia wątroby w przebiegu COVID-19 oraz wskazuje na odmienności w wynikach badań laboratoryjnych dotyczących funkcji wątroby u osób zakażonych SARS-CoV-2. Szczególnie ta część publikacji zasługuje na uznanie, ponieważ opisana jest wyczerpująco. Potwierdza to zainteresowanie Doktorantki tematem i jej swobodne poruszanie się w tematyce badań laboratoryjnych markerów funkcji wątroby. Z czystego obowiązku recenzenta poproszę Doktorantkę o wyjaśnienie, co rozumie przez „ciężką apoptozę” na stronie 23 polskiej wersji pracy. Z mojej wiedzy i doświadczenia wynika bowiem, że apoptoza może zachodzić lub nie i dotyczyć określonego odsetka komórek – nie wskazuje się jednak nigdy jej nasilenia, ponieważ jest to proces zero-jedynkowy.

O aktualności badanego przez Doktorantkę tematu świadczy również dobór bibliografii. W obu pracach zacytowano bowiem 80 pozycji literaturowych, z czego 55 (czyli niemal 70%) to prace z ostatnich 5 lat.

Podsumowując, rozprawę na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu mgr Dagmary Przekop oceniam bardzo wysoko. Doktorantka wykazała dobre przygotowanie teoretyczne, opanowanie warsztatu badawczego oraz umiejętność analizy uzyskanych wyników. Wyniki rozprawy wskazują na ograniczoną użyteczność testów biochemicznych w monitorowaniu leczenia pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C jak również na zróżnicowany wpływ zakażenia wirusem SARS-CoV-2 na funkcję wątroby. Wyniki te otwierają więc furtkę do poszukiwania bardziej skutecznych biomarkerów, które mogłyby pozwolić na ograniczenie stosowania badań inwazyjnych u chorych z dysfunkcją wątroby. Zarówno publikacje jak i cała rozprawa pisane są bardzo płynnie i czyta się je z nieukrywaną przyjemnością.

W mojej ocenie rozprawa spełnia warunki określone w artykule 187 Ustawy z dnia 20.07.2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, dlatego wnoszę do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie pani mgr Dagmary Przekop do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 26.08.2022

Dr hab. n. med. Olga Ciepiała

KIEROWNIK
Zakładu Medycyny Laboratoryjnej
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

dr hab. n. med. Olga Ciepiała