



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

I KLINIKA ANESTEZJOLOGII I INTENSYWNEJ TERAPII

Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Janusz Trzebicki

02-005 Warszawa, ul. Lindley'a 4

tel. +48 22 5021721; fax. +48 22 5022103

e-mail: klinanest1@wum.edu.pl; <http://anestezjologia1.wum.edu.pl>

Warszawa 30.06.2022 r.

RECENZJA

ROZPRAWY DOKTORSKIEJ LEK. EWY WOŹNICY-NIESOBSKIEJ

PT.: NIEWYDOLNOŚĆ WĄTROBY W PRZEBIEGU SEPSY

Promotor: dr hab. n. med. Lidia Łysenko, prof. UMW

Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii

Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Światowa Organizacja Zdrowia w roku 2017 uznała, że działania mające na celu poprawę w zapobieganiu, diagnozowaniu i leczeniu sepsy są światowym priorytetem zdrowotnym. Sepsa, a szczególnie wstrząs septyczny, to zagrażająca życiu niewydolność narządów spowodowana nieprawidłową odpowiedzią organizmu na zakażenie. W jej przebiegu dochodzi do niewydolności wielu ważnych dla życia narządów, takich jak nerki, wątroba, serce i płuca, co określane jest jako zespół dysfunkcji wielonarządowej (MODS).

W leczeniu sepsy należy prowadzić leczenie przyczynowe - ukierunkowane na eliminację patogenu, i objawowe w celu utrzymania funkcji poszczególnych narządów i zachowania lub przywrócenia homeostazy. Wymaga to odpowiedniego monitorowania funkcji życiowych, wielodyscyplinarnej oceny pacjenta, zaawansowanej diagnostyki laboratoryjnej i obrazowej oraz dostępu do specjalistycznych metod podtrzymywania czynności narządów. Z tych względów pacjenci z sepsą, a szczególnie wstrząsem septycznym, są hospitalizowani w oddziałach intensywnej terapii.

Podstawowe znaczenie dla skuteczności terapii sepsy i jej ogólnoustrojowych skutków ma skrócenie czasu, w jakim zostanie ona zdiagnozowana, rozpoczęte leczenie

przeciwdrobnoustrojowe i ukierunkowane postępowanie terapeutyczne podtrzymujące funkcje poszczególnych narządów. Wczesna diagnostyka dysfunkcji narządów umożliwia szybkie wdrożenie odpowiednich procedur terapeutycznych w celu ograniczenia ryzyka ich nieodwracalnego uszkodzenia.

Dysfunkcja wątroby jest jedną ze składowych MODS, który istotnie zwiększa ryzyko zgonu u chorych z sepsą. Jej wystąpienie jest niezależnym czynnikiem złego rokowania w tej grupie pacjentów. Z tych względów istotne jest, aby diagnostyka dysfunkcji wątroby była oparta na ocenie odpowiednio czułych i swoistych markerów, co może pozwolić na wczesne wdrożenie odpowiedniej terapii ograniczającej uszkodzenie tego narządu i poprawić wyniki leczenia. Obecnie wykorzystuje się markery uszkodzenia komórek wątroby (np. ASPAT, ALAT, FA, LDH, GGT), zdolności syntezy białek przez wątrobę (np. PT/INR, ATIII, ALB, amoniak) czy markery funkcji wydzielniczej wątroby (np. bilirubina, kw. żółciowe). Jednak nie są one wysoko swoiste dla oceny dysfunkcji wątroby w przebiegu sepsy czy wstrząsu septycznego i dlatego poszukuje się nowych biomarkerów, które mogą pozwolić na dokładniejszą diagnostykę zaburzeń czynności tego narządu.

Wobec powyższego temat dysertacji doktorskiej lek. Ewy Woźnicy-Niesobskiej jest bardzo aktualny, a wyniki badania stanowią istotny wkład naukowy dla poszerzenia wiedzy w zakresie poszukiwania wczesnych czynników predykcyjnych wystąpienia dysfunkcji wątroby jako składowej zespołu niewydolności wielonarządowej u chorych z sepsą.

Lek. Ewa Woźnica-Niesobka w autorskim badaniu prospektywnym, obserwacyjnym przedstawiła ocenę przydatności nowych biomarkerów w diagnostyce niewydolności wątroby w przebiegu sepsy (SALD, sepsis-associated liver dysfunction).

Dysertacja zawiera 151 stron i ma układ typowy dla tego typu opracowań. Składa się z 17 rozdziałów i podrozdziałów, zawiera wykaz skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, spis rycin i tabel, informacje o finansowaniu badania, uchwały komisji bioetycznej oraz spis piśmiennictwa.

We wstępie Doktorantka przedstawiła zagadnienia związane z sepsą oraz wstrząsem septycznym, ich definicje i kryteria rozpoznania, opisała w sposób zwięzły i przejrzysty anatomie i funkcje wątroby, najczęstsze przyczyny jej niewydolności, ze szczególnym uwzględnieniem SALD, oraz metody diagnostyki i leczenia. Omówiła dotychczas wykorzystywane markery pozwalające na rozpoznanie niewydolności wątroby, ich zalety i wady. Przedstawiła pięć nowych potencjalnych biomarkerów dysfunkcji wątroby

(hepcydyna, endotelina 1, białko 10kD indukowane interferonem alfa, kompleks trombina-antytrombina, inhibitor aktywatora plazminogenu), które badała u chorych z rozpozną sepsą/wstrząsem septycznym.

Głównym celem pracy doktorskiej była próba określenia biomarkerów pozwalających na wczesne rozpoznanie SALD, którą zdefiniowano jako wzrost stężenia bilirubiny w osoczu krwi $\geq 2\text{mg/dl}$ przy wykluczeniu innych niż sepsa przyczyn hiperbilirubinemii. Cztery cele szczegółowe obejmowały ocenę częstości występowania SALD u chorych leczonych w oddziałach intensywnej terapii (OIT), określenie przydatności wcześniej wymienionych nowych potencjalnych biomarkerów jako predyktorów wystąpienia SALD, analizę wpływu chorób towarzyszących i źródła sepsy na wystąpienia SALD oraz ocenę 28-dniowego przeżycia chorych z SALD.

W rozdziale Materiał Doktorantka przedstawiła grupę badaną, ramy czasowe i miejsce badania, kryteria włączenia i wyłączenia oraz przyjętą definicję sepsy.

W rozdziale Metodyka badania lek. Ewa Woźnica-Niesobska opisała zakres badań laboratoryjnych wykonywanych w grupie badanej, metody monitorowania parametrów życiowych, stosowane skale niewydolności wielonarządowej, kryteria rozpoznania DIC oraz przyjęte standardy leczenia. Szczegółowo przedstawiła metodę i punkty czasowe pobrania krwi na badanie ocenianych biomarkerów oraz sposób oznaczania ich stężeń w osoczu.

Ocenę stanu ogólnego, niewydolności narządów, poszczególnych parametrów i wyników badań prowadzono w 1., 3., 5., 7. i 14. dobie hospitalizacji, a przeżycie w 28. dobie.

Analizę statystyczną Doktorantka zaplanowała, wykorzystując odpowiednio dobrane testy statystyczne.

Wyniki badania zostały przedstawione na 82 stronach, obejmujących 36 rycin i 48 tabel uzupełnionych komentarzami.

Z grupy 480 pacjentów przyjętych do OIT z powodu sepsy/wstrząsu septycznego do ostatecznej analizy zakwalifikowano 79. Przyjęte kryteria SALD spełniło 24.

Obie grupy SALD (+) i SALD (-) w momencie włączenia do badania nie różniły się istotnie w zakresie danych demograficznych (wiek, płeć), wyników w skali SOFA i APACHE II, występowania sepsy lub wstrząsu septycznego, a także pod względem analizowanego podczas badania 28-dniowego przeżycia. Nie wykazano również w tych grupach różnic w zakresie występowania chorób towarzyszących. Istotnie częściej

w grupie SALD (+) w porównaniu z SALD (-) występowało, jako źródło sepsy, zakażenie krwi. Jednak najczęstszą przyczyną sepsy w grupie SALD (+) była infekcja płucna, a w grupie SALD (-) infekcja brzuszna. W ocenie zaawansowania niewydolności wielonarządowej w skali SOFA jedynie w pierwszej dobie po włączeniu do badania nie było różnic pomiędzy grupami, natomiast w kolejnych przyjętych punktach czasowych w grupie SALD (+) punktacja w tej skali była istotnie wyższa. W zakresie ocenianych parametrów układu sercowo-naczyniowego stwierdzono istotnie niższe wartości mediany ciśnienia rozkurczowego i średniego jedynie w 14. dobie obserwacji, a istotnie wyższe wartości mediany tętna tylko w 3. dobie w grupie SALD (+). Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami w wartościach median SpO₂, dawkach krystaloidów, przetoczeniach składników krwi oraz dawkach stosowanej adrenaliny czy wazopresyny, natomiast w 3. dobie obserwowano istotnie wyższe wartości mediany dawki noradrenaliny grupie SALD (+). Analiza wyników rutynowych badań laboratoryjnych w kolejnych punktach czasowych badania nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupami w zakresie Ht, liczby leukocytów, stężenia kreatyniny i mocznika. Stwierdzono w grupie SALD (+) istotnie niższą liczbę płytek krwi w 5. i 7. dobie, wyższe stężenie PCT w 1., 3., 5., 7. oraz mleczanów w 1. i 3. dobie. Nie wykazano różnic w zakresie stężenia CRP w badanych grupach. Analizując wartości mediany stężenia PCT z 1. doby w całej grupie badanej jako potencjalnego czynnika uszkadzającego hepatocyty i promującego wystąpienie SALD, którego markerem jest stężenie bilirubiny, Doktorantka wykazała, że stężenie PCT >2,5ng/ml koreluje ze wzrostem stężenia bilirubiny w 3. i 5. dobie obserwacji. Oceniając parametry czynności wątroby, Autorka potwierdziła prawidłową kwalifikację do grupy SALD (+), w której stężenie bilirubiny było istotnie wyższe we wszystkich punktach czasowych badania w porównaniu do grupy SALD (-). Wartości median aktywności ASPAT były istotnie wyższe w grupie SALD (+) podczas całego badania, ALAT w 3. i 7., FA w 1., 3. i 14., a stężenie albumin w 5. dobie, natomiast aktywność GGT była istotnie niższa w tej grupie w 14. dobie obserwacji. Z badanych parametrów układu krzepnięcia jedynie aktywność ATIII była istotnie niższa w grupie SALD (+), ale tylko w 3. dobie, a w wartości median INR i APTT nie różniły się istotnie pomiędzy grupami. Analizując uzyskane stężenia 5 potencjalnych nowych biomarkerów w badanych grupach chorych, Doktorantka przeprowadziła analizę statystyczną, porównując wyniki wartości median stężeń pomiędzy grupami, korelację ich stężeń w 1. dobie z uzyskanymi wynikami wartości punktacji w skali APACHE II i SOFA w 1. dobie oraz bilirubiny, SOFA i mleczanów w 3., 5., 7. i 14. dobie. Mediana wartości

stężenia Hepcydyny była istotnie niższa w grupie SALD (+) w 1., dla TAT w 5. i 7. dobie, wyższa dla ET-1 w 3., a dla PAI-1 w 1., 3., 5. i 7. dobie. Stężenie IP-10 nie różniło się pomiędzy grupami. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy medianami wartości stężeń Hepcydyny, IP-10, TAT a punktacją w 1. dobie w skali APACHE II i SOFA, natomiast występowała dodatnia korelacja w tym zakresie z wartościami stężenia ET-1, a stężenia PAI-1 korelowało dodatnio tylko z punktacją SOFA. Analiza korelacji median wartości stężeń nowych potencjalnych biomarkerów uzyskanych w 1. dobie badania ze stężeniem bilirubiny, mleczanów oraz punktacją SOFA w kolejnych punktach czasowych obserwacji wykazała, że występuje ujemna korelacja pomiędzy stężeniami Hepcydyny a bilirubiny, mleczanów i punktacją SOFA odpowiednio w dobach 5., 7., 17.; 3., 5., 7.; 5., 7. Dla ET-1 dodatnia korelacja występowała względem punktacji SOFA w 5. dobie i mleczanów w 5., 7., 14. Wartości median stężenia PAI-1 w 1. dobie dodatnio korelowały ze stężeniami bilirubiny, mleczanów oraz punktacją SOFA w 3., 5., i 7. dobie badania. Natomiast nie stwierdzono korelacji w tym zakresie z medianami wartości stężeń IP-10 i TAT. Na podstawie wyników badań statystycznych Doktorantka stwierdziła, że jedynie wartości stężenia PAI-1 w 1. dobie obserwacji wykazują istotną różnicę pomiędzy badanymi grupami i przeprowadziła ocenę wiarygodności testu i wyznaczyła wartość progową dla PAI-1 wynoszącą 9ng/ml, co pozwala na przewidywanie wystąpienia SALD z czułością 79,2%, specyficzność 41,8% przy wartości predykcyjnej dodatniej 37,3%, a negatywnej 82,1%. Analiza wieloczynnikowa w modelu regresji proporcjonalnego hazardu Coxa została przeprowadzona w celu określenia przydatności niektórych analizowanych czynników (PAI-1, APACHE II, SOFA, mleczały) jako predyktorów śmiertelności w grupie SALD. Doktorantka wykazała, że jedynie stężenie PAI-1 >9ng/ml i punktacja w skali APACHE II powyżej 21 mogą być takimi predyktorami. W grupie SALD pacjenci, u których stwierdzano w 1. dobie stężenie PAI-1 powyżej lub równe 9ng/ml mieli istotnie niższe 28-dniowe przeżycie. Siłę przewidywania przeżycia zwiększyło dołączenie do PAI-1 wyniku aktywności ASPAT >70 UI/l. Pacjenci z SALD, u których stwierdzono stężenie PAI-1 \geq 9 ng/ml i aktywność ASPAT \geq 70 Ui/l mieli istotnie niższe 28-dniowe przeżycie w porównaniu do pozostałych.

W Omówieniu wyników i Dyskusji Doktorantka przedstawiła wyniki badań innych autorów i porównała z uzyskanymi podczas swojego badania. Wykazała się odpowiednią wiedzą i umiejętnościami dla krytycznej oceny własnych wyników w oparciu o doniesienia innych badaczy. Na podstawie danych z aktualnego piśmiennictwa udowodniła, że zagadnienie występowania SALD u chorych z sepsą jest mało poznane, a stosowane

kryteria jej rozpoznania są różne, co wymaga dalszych badań. Należy również kontynuować poszukiwanie optymalnych biomarkerów, których oznaczenie pozwoli na szybką i pewną diagnostykę umożliwiającą włączenie ukierunkowanego leczenia. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki, w świetle dotychczasowej wiedzy, wnoszą nowe informacje dotyczące SALD, co wskazuje na nowatorski charakter przeprowadzonego badania. Pomimo znacznej liczby danych zaprezentowanych w tym opracowaniu, autorka bardzo umiejętnie i przejrzyście przeprowadziła dyskusję, co świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym i umiejętnościach logicznego myślenia.

Przedstawione wnioski odpowiadają celom, jakie sformułowała Doktorantka na początku swojej pracy.

Piśmiennictwo zawiera 81 pozycji, które są aktualne, prawidłowo dobrane i cytowane. Całość pracy jest napisana w sposób logiczny, jasny i jednoznaczny. Autorka zadbała o właściwą formę stylistyczną.

Z obowiązku recenzenta przedstawiam poniżej kilka uwag.

W wykazie skrótów błędnie opisano ACLF. Nie uwzględniono nazewnictwa angielskiego, od którego pochodzi skrót PT. Według recenzenta numery i tytuły tabel powinny być umieszczone nad tabelą. Na ryc. 12. gwiazdką zaznaczono istotną różnicę tętna w 3. dobie, natomiast graficznie nie jest to jasne. W opisie ryc. 34. podano, że „zaobserwowano istotnie statystycznie obniżenie stężenia ET-1 w dobie 5 i 7 (...) w grupie SALD (+) w stosunku do doby pierwszej.” Nie pokrywa się to z wynikiem przedstawionym na rycinie.

Powyżej przedstawione uwagi w żadnym wypadku nie umniejszają bardzo pozytywnej oceny rozprawy doktorskiej lek. Ewy Woźnicy-Niesobskiej. Projekt badania, jego wykonanie oraz umiejętne przedstawienie wyników jak również interesująco i dojrzałe poprowadzona dyskusja oraz uzyskane wnioski wskazują na odpowiednie przygotowanie Doktorantki do samodzielnego prowadzenia prac badawczych. Należy również pokreślić, że Doktorantka uzyskała finansowanie na prowadzenie badania w ramach programu Diamentowy Grant, co jest bardzo istotnym osiągnięciem dla młodego badacza.

Na podstawie oceny przedstawionej do recenzji dysertacji doktorskiej należy stwierdzić, że lek. Ewa Woźnica-Niesobka posiada kwalifikacje i umiejętności w formułowaniu i rozwiązywaniu aktualnego problemu badawczego i przedstawiła bardzo dobrą znajomość problematyki prowadzonych badań.

Uważam, że rozprawa doktorska lek. Ewy Woźnicy-Niesobskiej spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Wobec powyższego wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Ewy Woźnicy-Niesobskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med. Janusz Trzebicki

