

Wniośn. 27.06.22
Uniwersytet Medyczny w Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
zastępca przewodniczącego
m. Pożniorska Około
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołow

Dr hab. n. med. Barbara Tamowicz
Pracownia Intensywnej Terapii i Leczenia Bólu
Katedra Medycyny Ratunkowej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Poznań, 18.06.2022 r.

Uniwersytet Medyczny w Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpł. dnia	21-06-2022
L. dz. RN-BM/	2022/2022

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. Ewy Woźnicy-Niesobskiej

„Niewydolność wątroby w przebiegu sepsy”

Rozprawa doktorska podejmuje problematykę z obszaru wczesnej diagnostyki niewydolności wątroby w przebiegu sepsy (SALD – sepsis associated liver dysfunction). Sepsa jest główną przyczyną zgonów na oddziałach intensywnej terapii na całym świecie i stanowi poważny problem dla zdrowia publicznego, ze względu na dużą liczbę zgonów w populacji produktywnej ekonomicznie oraz poważną zachorowalność wśród osób, które przeżyły.

Wątroba odgrywa kluczową rolę w homeostazie metabolicznej i obronie gospodarza przed patogenami. Podczas sepsy wątroba może regulować funkcje immunologiczne poprzez takie mechanizmy, jak eliminacja bakterii, wytwarzanie białek ostrej fazy lub cytokin oraz adaptacja metaboliczna do stanu zapalnego. W przebiegu sepsy sama infekcja, nadaktywność odpowiedzi zapalnej, niewydolność mikrokrażenia oraz niekorzystne skutki leczenia mogą powodować uszkodzenie wątroby. Sepsa powoduje ostre uszkodzenie wątroby z powodu zaburzeń hemodynamicznych, ale możliwe jest również bezpośrednie uszkodzenie hepatocytów. Rozwój niewydolności wątroby w sepsie jest uznawany za poważne powikłanie, które wpływa na ocenę ciężkości sepsy oraz ogranicza pozytywne wyniki leczenia.

Tematem pracy jest przegląd wybranych biomarkerów umożliwiających wczesne rozpoznanie SALD oraz ocena 28-dniowego przeżycia pacjentów z SALD. Podjęta problematyka badawcza może mieć wpływ na możliwość wdrożenia profilaktyki o działaniu

hepatoprotekcyjnym oraz na indywidualizację procesu terapeutycznego, co ściśle przekłada się na poprawę rokowania w przebiegu sepsy/wstrząsu septycznego.

Zasadniczym celem rozprawy doktorskiej była próba określenia biomarkerów umożliwiających wczesne rozpoznanie SALD. Pozostałe cele projektu badawczego obejmują: określenie częstości występowania SALD w oddziale intensywnej terapii (OIT), ustalenie przydatności zastosowania hepcydyny, ET-1, TAT, PAI-1, IP-10, jako wczesnych predyktorów wystąpienia SALD, ocenę wpływu chorób towarzyszących oraz źródła sepsy na wystąpienie SALD, ocenę 28-dniowego przeżycia pacjentów z SALD.

Jednośrodkowe obserwacyjne badanie miało charakter prospektywny i zostało przeprowadzone na grupie 79 chorych leczonych w OIT Kliniki Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu, w latach 2015 - 2019, po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu. Badanie było finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego – „Diamentowy Grant”.

Do badania zakwalifikowano wstępnie 175 pacjentów leczonych w OIT z powodu sepsy/wstrząsu septycznego, po spełnieniu kryteriów włączenia i wykluczenia z badania. Po wykluczeniu kolejnych 96 chorych wykazujących inne niż sepsa przyczyny hiperbilirubinemii, do ostatecznej analizy włączono 79 pacjentów. Na podstawie stężenia bilirubiny w surowicy krwi wyróżniono 2 grupy: grupę SALD(+) (n = 24) oraz SALD(-) (n = 55). SALD rozpoznano u chorych ze stężeniem bilirubiny w surowicy krwi ≥ 2 mg/dl.

W momencie postawienia rozpoznania sepsy/wstrząsu septycznego u chorych wykonywano rutynowe badania krwi: morfologia krwi, wskaźnik protrombinowy, APTT, INR, D-dimery, AT III, CRP, PCT, glukoza, mocznik, kreatynina, bilirubina, AspAT, ALAT, FA, GGT, albumina, elektrolity, gazometria krwi tętniczej. W tym samym czasie pobierano krew celem analizy wybranych biomarkerów: hepcydyny, ET-1, TAT, PAI-1, IP-10. Pierwszorzędowym punktem końcowym był rozwój SALD, drugorzędowym punktem końcowym była 28-dniowa śmiertelność.

Wyniki pracy przedstawiono w postaci rycin i tabel. Na podstawie prezentowanych wyników badań SALD rozpoznano u 24 pacjentów (30,4%). Wykazano, że choroby towarzyszące oraz przyczyna sepsy, za wyjątkiem odcewnikowych zakażeń krwi, nie zwiększały ryzyka niewydolności wątroby.

Autorka przeanalizowała wybrane biomarkery pod kątem ich stężenia w 1., 3., 5., 7. i 14. dobie obserwacji oraz pod kątem korelacji pomiędzy ich stężeniem w 1. dobie obserwacji a stężeniem bilirubiny, punktacją w skali SOFA i stężeniem mleczanów w całej grupie badanej, w kolejnych dobach obserwacji. Jedynie dla stężenia PAI-1 w 1. dobie obserwacji wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupami SALD(+) i SALD(-) ($p < 0.05$). Ustalono, że jedynie stężenie PAI-1, oznaczane w momencie rozpoznania sepsy/wstrząsu septycznego, może być przydatne w prognozowaniu SALD. PAI-1 z wartością progową wynoszącą 9 ng/ml może być predyktorem wystąpienia SALD (AUC = 0,727, czułość 79,2%, specyficzność 41,8%). Ponadto autorka wykazała istotną statystycznie dodatnią korelację stężenia PAI-1 ze stopniem niewydolności narządowej ocenianej w skali SOFA. Wyższe stężenie PAI-1 w 1. dobie obserwacji było związane ze wzrostem punktacji w skali SOFA w 3., 5. i 7. dobie obserwacji.

Przeżycie w obu grupach SALD(+) i SALD(-) nie różniło się istotnie ($p = 0,117$). Przeżycie 28-dniowe w grupie SALD(-) wynosiło $67,3 \pm 6,3\%$, a w grupie SALD(+) $50,0 \pm 10,2\%$. Wartości progowe stężenia PAI-1 zestawiono z wartościami AspAT, co poprawiło siłę przewidywania 28-dniowego przeżycia ($p = 0,00242$; czułość 73,9%; specyficzność 64,7%; PPV 48,6%; NPV 84,6%). Przeżycie 28-dniowe w grupie chorych, u których stężenie PAI-1 < 9 ng/ml i aktywność AspAT < 70 U/l, wynosiło $95,0 \pm 4,9\%$. Ponadto analiza wieloczynnikowa z użyciem modelu regresji proporcjonalnego hazardu Coxa wykazała, że jedynie stężenie PAI-1 > 9 ng/ml oraz punktacja w skali APACHE II > 21 mogą być niezależnymi predyktorami śmiertelności w grupie SALD(+) ($\text{Chi}^2 = 23,2132$, $p = 0,00001$).

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka wysunęła następujące wnioski. W grupie wszystkich chorych zakwalifikowanych do badania, SALD rozpoznano na podstawie hiperbilirubinemii u 30,4% badanych. Choroby towarzyszące oraz źródło sepsy (z wyjątkiem odcewnikowych zakażeń krwi) nie miały wpływu na rozwój SALD. Spośród wyników rutynowych badań laboratoryjnych tylko aktywność AspAT i FA były istotnie statystycznie wyższe u pacjentów, którzy rozwinęli SALD. Spośród analizowanych nowych biomarkerów, jedynie stężenie PAI-1 w chwili rozpoznania sepsy/wstrząsu septycznego okazało się być przydatne w prognozowaniu wystąpienia SALD. Stężenie PAI-1 ≥ 9 ng/ml uzyskane w momencie rozpoznania sepsy/wstrząsu septycznego, okazało się być przydatne w prognozowaniu wystąpienia SALD. Nie obserwowano różnicy w przeżyciu 28-dniowym pomiędzy grupami SALD(+) i SALD(-). W grupie wszystkich chorych zakwalifikowanych do



badania stężenie PAI-1 korelowało ze stopniem niewydolności narządowej ocenianej w skali SOFA. W grupie wszystkich chorych zakwalifikowanych do badania, wyższe wartości PAI-1 obserwowane w 1. dobie od rozpoznania sepsy/wstrząsu septycznego, związane były z większym wzrostem stężenia bilirubiny w kolejnych dobach. W grupie wszystkich chorych zakwalifikowanych do badania stężenie bilirubiny nie było dobrym predyktorem 28-dniowego przeżycia. Połączenie oznaczania PAI-1 i aktywności AspAT korzystniej przewidywało 28-dniowe przeżycie u chorych z sepsą/wstrząsem septycznym niż oznaczanie samego stężenia PAI-1; niskie wartości odcinające dla aktywności AspAT powodują, iż wynik ten należy traktować z dużą ostrożnością.

W omówieniu wyników Doktorantka ustosunkowała się do danych z piśmiennictwa krajowego i światowego, wykazując się dobrą znajomością prezentowanych zagadnień. Głównym problemem w ocenie częstości wystąpienia SALD jest brak jednolitej definicji oraz kryteriów diagnostycznych tego zespołu.

W przypadku oceny pacjentów w skali SOFA autorka obserwowała istotną statystycznie różnicę między grupami SALD(+) i SALD(-) w 3., 5., 7. i 14. dobie. Chorzy w grupie SALD(+) osiągnęli wyższy wynik w skali SOFA niż chorzy w grupie SALD(-). Świadczy to o cięższym stanie chorych w grupie SALD(+). Jednak różnica w punktacji w skali SOFA nie przekładała się na różnicę w przeżyciu 28-dniowym. O cięższym stanie chorych w grupie SALD(+) świadczą również wyższe stężenia mleczanów w dobach 1. i 3. w porównaniu z chorymi w grupie SALD(-). Ponieważ wątroba jest głównym narządem odpowiedzialnym za klirens mleczanów, powyższa obserwacja może być związana z ostrą dysfunkcją wątroby w grupie SALD(+).

Ciekawe spostrzeżenia dotyczyły istotnie statystycznie wyższej aktywności AspAT w grupie SALD(+), przemawiające za niedokrwieniem wątroby jako jednej z przyczyn rozwoju SALD. Aktywność AspAT zwiększa się zazwyczaj w niedokrwicznym i toksycznym uszkodzeniu wątroby. Zaliczenie aktywności aminotransferaz do panelu markerów predykcyjnych SALD potwierdzili autorzy licznych badań.

Kolejna ważna obserwacja dotyczyła analizy stężenia PCT, które było istotnie statystycznie wyższe w pierwszych siedmiu dobach w grupie SALD(+) w porównaniu do grupy SALD(-). W grupie SALD(+) wzrostowi stężenia PCT powyżej 2,5 ng/ml w 1. dobie badania towarzyszył istotny statystycznie wzrost stężenia bilirubiny w kolejnych dobach, tj.

3. i 5. Może to sugerować zaliczenie PCT do kolejnych potencjalnych czynników uszkadzających hepatocyty, co wymaga dalszych badań w tym zakresie.

Autorka wykazała, że spośród analizowanych nowych biomarkerów, jedynie stężenie PAI-1 w chwili rozpoznania sepsy/wstrząsu septycznego okazało się być przydatne w prognozowaniu wystąpienia SALD. Po dokonaniu przeglądu dostępnego piśmiennictwa stwierdziła, że badanie własne było pierwszym, w którym analizowano korelację pomiędzy PAI-1 i funkcją wątroby u chorych z sepsą/wstrząsem septycznym. Kolejnym ważnym spostrzeżeniem było stwierdzenie dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem PAI-1, a punktacją w skali SOFA oraz stężeniem mleczanów w 3., 5., 7. dobie, co potwierdziły wyniki badań innych autorów.

Ciekawe wyniki dotyczyły analizy hepcydyny w kontekście badanych biomarkerów. W całej grupie chorych włączonych do badania zaobserwowano istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy stężeniem hepcydyny w 1. dobie a stężeniem bilirubiny oraz punktacją w skali SOFA i stężeniem mleczanów w kolejnych dobach badania. Niższe stężenie hepcydyny, a więc brak jej działania ochronnego na wątrobę może być związane z uszkodzeniem wątroby i rozwojem SALD. Obserwacja ta wymaga potwierdzenia w dalszych badaniach.

Autorka wykazała, że w przeciwieństwie do wyników badań innych autorów, stężenie bilirubiny okazało się być późnym i mało specyficznym markerem dysfunkcji wątroby oraz słabym predyktorem przeżycia w grupie pacjentów z sepsą/wstrząsem septycznym. Hiperbilirubinemia może być jedynie sygnałem pogarszającej się funkcji wątroby. Wyzwaniem pozostaje znalezienie czułego i specyficznego markera SALD, ponieważ żaden z analizowanych w badaniach własnych nie spełnił kryteriów idealnego markera dla rozpoznania SALD. Chociaż PAI-1 można uznać za pomocny w prognozowaniu SALD, jego niska specyficzność i wysokie NPV skłaniają do analizowania wartości PAI-1 w połączeniu z innymi markerami, co potwierdzają inni autorzy.

Doktorantka zwróciła uwagę na ograniczenia pracy, które dotyczyły relatywnie małej liczebności grupy badanej, braku możliwości rutynowego oznaczania amoniaku w surowicy oraz braku ujednoczenia metod oznaczania PAI-1. Konieczne są dalsze badania wieloośrodkowe w obszarze wczesnych predyktorów wystąpienia SALD.

Autorka prezentowanej rozprawy doktorskiej planuje dalsze badania w zakresie: analizy korelacji oceny amoniaku w surowicy krwi chorych z sepsą, a funkcją wątroby;

analizy stężeń karboksyhemoglobiny w surowicy i roli tlenu węgla jako czynnika hepatoprotekcyjnego; korelacji zaburzeń układu krzepnięcia z wystąpieniem dysfunkcji wątroby w oparciu o tromboelastometrię; analizy wpływu PCT na funkcję wątroby.

Doktorantka umiejętnie korzystała ze źródeł, poprawnie dobrała pozycje literaturowe. Układ pracy i struktura podziału treści są prawidłowe. Założenia badawcze oraz cele sformułowano poprawnie. Prawidłowo dobrano metody i narzędzia badawcze.

Praca napisana poprawnie pod względem językowym i stylistycznym.

Z racji obowiązku recenzenta muszę wspomnieć o kilku uchybieniach:

Str. 80, wers 3, zamiast: „dób 5., 7. i 14.”, powinno być: „dób 1., 5. i 14”.

Str. 119, wers 5, zamiast: „opublikowanie”, powinno być: „opublikowane”.

W kilku przypadkach nie dokonano rozwinięcia skrótów.

Przedstawione spostrzeżenia nie umniejszają wartości przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej.

Rozprawa doktorska 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.).

Powyższe uzasadnienie pozwala przedstawić Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. Ewy Woźnicy-Niesobskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Mam również zaszczyt wnioskować o wyróżnienie przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej. Podjęta problematyka badawcza stanowi nowatorski wkład naukowy w obszarze poszukiwania nowych biomarkerów prognozujących wystąpienie SALD. Badanie własne było pierwszym, w którym analizowano korelację pomiędzy PAI-1 i funkcją wątroby u chorych z sepsą/wstrząsem septycznym. Wyniki przeprowadzonych badań mogą mieć wpływ na indywidualizację procesu terapeutycznego oraz poprawę rokowania w przebiegu sepsy/wstrząsu septycznego.

2770716
dr hab. n. med. Barbara Tamowicz
specjalista anestezjologii
i intensywnej terapii

Barbara Tamowicz