

Uniwersytet Medyczny  
we Wrocławiu



RPW/10798/2023 P  
Data:2023-06-28

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wł. dr/a	28-06-2023
L. dz. RN-BM/	1148

Włch 29.06.2023

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE

zastępca przewodniczącego  
M. Podhorska-Okołów

prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów

Warszawa, 23. 06. 2023r.

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Kamila Litwinowicza  
pt. „Ocena produktów zaawansowanej glikacji i mikrobiomu u pacjentów  
nadużywających alkoholu”**

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Gamiana,  
w Katedrze Biochemii i Immunologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich  
we Wrocławiu

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest cyklem powiązanych tematycznie prac opublikowanych w latach 2021-2023, w wysoko punktowanych czasopismach - IF każdego przekracza 6,00, sumaryczny IF wynosi 19,62, a całkowita liczba punktów MNiSW 420. Udział Doktoranta we wszystkich pracach jest znamieny, gdyż w każdej jest on nie tylko pierwszym autorem ale i korespondencyjnym. Badania będące przedmiotem rozprawy były finansowane z grantów Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego i Narodowego Centrum Nauki (NCN).

Rozprawa składa się z trzech publikacji oraz ich streszczenia (w języku polskim i angielskim), krótkiego wstępu wyjaśniający celowość podjęcia badań, rodzaju wykorzystywanego materiału, opisu zastosowanych metod, uzyskanych wyników i wynikających z nich wniosków. Całość napisana jest zwięźle, poprawnym językiem, czyta się bardzo dobrze.

### **Ocena merytoryczna**

Nadużywanie alkoholu jest zjawiskiem częstym, prowadzącym do uzależnienia, marskości, raka wątroby oraz śmieci. Zaburzenie używania alkoholu (AUD) jest czynnikiem ryzyka w ponad 200 różnych chorobach, spośród których ponad 40 jest ściśle związanych z alkoholem. Najpoważniejszą jednostką jest alkoholowa choroba wątroby (ALD), odpowiedzialna za prawie 50% zgonów spowodowanych chorobami wątroby.

Badania stanowiące ocenianą rozprawę doktorską dotyczą alkoholowej choroby wątroby, a w szczególności jej pośredniego etapu jakim jest alkoholowe zapalenie wątroby (AH). Przewlekły alkoholizm prawie zawsze prowadzi do stłuszczenia wątroby, które po zaprzestania picia alkoholu zazwyczaj cofa się, natomiast w przypadku dalszego, ciągłego

spożywania alkoholu może przejść w nieodwracalne zapalenie a następnie marskość wątroby. Diagnostyka i określenie etapu alkoholowej choroby wątroby są trudne pomimo, iż liczne badania dostarczyły wielu informacji o zaburzeniach różnych szlaków molekularnych czy zmianach parametrów biochemicznych. Wśród tych ostatnich znalazło się gromadzenie produktów zaawansowanej glikacji – glikotoksyn (AGE) oraz zaburzenia mikrobiomu.

AGE stanowią liczną, strukturalnie różną grupę związków chemicznych pełniących rolę w wielu odmiennych jednostkach chorobowych, w tym w ALD. Pomimo dobrze udokumentowanej roli AGE w ALD, wciąż trudno stwierdzić jaki jest ich wpływ na progresję tej prowadzącej do śmierci choroby.

Dlatego cel rozprawy, którym jest zbadanie powiązania klasycznych AGE (frakcja fluorescencyjna i CML – N-karboksymetylolizyna) z alkoholową chorobą wątroby, określenie możliwości wykorzystywania AGE10 (nowy, syntetyczny podtyp powstający w wyniku reakcji białek z melibiozą) w diagnostyce alkoholowego zapalenia wątroby, a także zaburzeń mikrobiomu w AUD i ALD jest istotne i jak najbardziej zasadne.

### **Ocena metodologiczna**

Pierwsza z trzech publikacji stanowiących rozprawę zawiera przegląd systematyczny jedenastu i metaanalizę ośmiu artykułów oceniających powiązania i skuteczność diagnostyczną różnych typów AGE z niealkoholową (NAFLD – 909 badanych) i alkoholową (ALD – 169 badanych) chorobą wątroby, w porównaniu do 766 zdrowych kontroli. Prace te zostały wyselekcjonowane z prawie 900 wstępnie wybranych artykułów. Badania wykonano zgodnie z wytycznymi PRISMA. Stwierdzono, że stężenia klasycznych AGE są znamienne wyższe u pacjentów z alkoholową chorobą wątroby niż u osób zdrowych. Wykazano także znamienne wzrost stężenia frakcji fluorescencyjnej AGE i CEL (N-karboksyetylolizyna) w surowicy chorych z NAFLD, natomiast u chorych z alkoholową marskością wątroby wzrost CML (N-karboksymetylolizyna), w porównaniu do zdrowej kontroli. Zarówno w NAFLD jak i w ALD dochodzi do istotnego wzrostu poziomu różnych AGE. Wykonana analiza wskazuje, że związki te np. pochodne aldehydu glicerynowego, mogą być wykorzystywane do różnicowania niealkoholowego stłuszczenia wątroby od niealkoholowego zapalenia wątroby.

Celem drugiej publikacji było wykazanie związku AGE10 z alkoholowym zapaleniem wątroby (AH) i określenie jego znaczenia w diagnostyce tego etapu ALD. Do badań zakwalifikowano 65 chorych z AH i 65 zdrowych kontroli (dawcy krwi). Należy zwrócić uwagę na staranny kliniczny dobór pacjentów oraz szczegółowo opisane kryteria włączania i wyłączenia do i z badania. Stężenie ALD oznaczano kompetycyjnym testem ELISA.

Wykazano istotnie podwyższony poziom AGE10 w osoczu badanych chorych, który nie zależał od stopnia uszkodzenia wątroby, wieku czy płci. Na podstawie dokładności diagnostycznej, czułości i swoistości stwierdzono, że AGE10 jest obiecującym markerem diagnostycznym alkoholowego zapalenia wątroby.

W trzeciej publikacji lek. Kamil Litwinowski zajął się badaniem mikrobiomu, którego zmiany uważane są za jeden z ważnych mechanizmów prowadzących do uszkodzenia wątroby w AUD. Wykorzystując dostępne w bazach danych sekwencje 16S rRNA zajął się jego oceną u pacjentów z AUD i ALD. Analizom bioinformatycznym poddał dane 122 pacjentów z AUD, 75 z alkoholową chorobą wątroby, 54 z innymi, niealkoholowymi chorobami wątroby oraz 260 osób zdrowych. Badanie wykazało liczne zaburzenia mikrobiomu u badanych pacjentów. W ALD, w porównaniu do AUD bez choroby wątroby, stwierdzono znaczny spadek bakterii typu *Firmicutes* wytwarzających maślan, związek o działaniu przeciwzapalnym i ochronnym na barierę jelitową, oraz wzrost typu *Proteobacteria*, który zawiera bakterie wytwarzające silnie immunogeny lipopolisacharyd. W grupie z ALD wykazano także zwiększenie aktywności szlaków związanych z syntezą lipopolisacharydu. Spośród *Proteobacteria* najistotniejszy wzrost wykazały bakterie powiązane z rozwojem ogólnoustrojowego stanu zapalnego.

## **Wnioski końcowe**

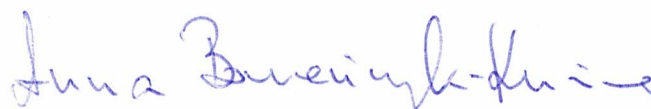
Reasumując, należy stwierdzić, że udział Doktoranta w koncepcji, wykonaniu badań, analizie danych i pisaniu publikacji był znamieny. Wysoko oceniam koncepcję pracy, zastosowane metody, wykonanie badań oraz opracowanie i interpretację uzyskanych wyników. Doktorant z całą pewnością posiada rozległą wiedzę w dziedzinie będącej przedmiotem Jego naukowego zainteresowania. Potrafi właściwie zaplanować i przeprowadzić badania wykorzystując wiele nowoczesnych metod statystycznych, chemicznych, biochemicznych. Rozprawa stanowi oryginalne, spójne dzieło wnoszące nowe treści do tak ważnego problemu jakim są zmiany chorobowe wątroby spowodowane nadużywaniem alkoholu. Ponadto, zawarte w niej spostrzeżenia i wyniki stwarzają dalsze możliwości badawcze.

Uważam, że rozprawa doktorska **lek. Kamila Litwinowskiego pt. „Ocena produktów zaawansowanej glikacji i mikrobiomu u pacjentów nadużywających alkoholu”**, wykonana pod kierunkiem Prof. dr hab. Andrzeja Gamiana, w Katedrze Biochemii i Immunologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668).

Z pełnym przekonaniem przedkładam Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie **lek. Kamila Liwinowskiego** do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę walory merytoryczne ocenianej rozprawy, szczególną staranność przeprowadzonych badań, znaczenie poznawcze badanego tematu, a także potencjalne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej **lek. Kamila Liwinowskiego**.



Prof. dr hab. Anna Barańczyk-Kuźma

emerytowany kierownik

Katedry i Zakładu Biochemii

I Wydziału Lekarskiego

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego