

Recenzja rozprawy doktorskiej p.t.: „Pentraksyna 3 w modelu własnym oceny zaawansowania włóknienia wątroby u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C”, wykonanej przez Panią mgr iż. Joannę Górkę-Dynysiewicz, pod kierunkiem Promotora – Pani dr hab. n.farm. Jolanty Zuwała –Jagiełło i Promotora Pomocniczego – dr n.med. Moniki Pazgan-Simon.

Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Katedra i Zakład Chemii
Klinicznej i Diagnostyki
Laboratoryjnej

41-200 Sosnowiec
ul. Jedności 8
www.sum.edu.pl

KIEROWNIK KATEDRY
prof. dr hab. n. med. Krystyna Olczyk
olczyk@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 364 11 50
fax: (+48 32) 364 11 57
chem_klin@sum.edu.pl



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Poszukiwania nowych, swoistych, nieinwazyjnych wskaźników, użytecznych w ocenie postępów lub regresji procesu włóknienia, jako kluczowego elementu patogenezы przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C (CHC), stanowią w pełni uzasadniony kierunek współczesnych badań biomedycznych, zważywszy fakt, iż ocena zaawansowania włóknienia wspomnianego narządu jest niezbędna zarówno dla oceny rokowania chorego, jak i dla wyboru strategii terapeutycznej, pozwalając na wyłonienie pacjentów z zaawansowaną postacią choroby, tj. wymagających wdrożenia natychmiastowej terapii wysoce skutecznymi i bezpiecznymi lekami o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym. Stosowane dotychczas w praktyce klinicznej do monitorowania aktywności martwiczo-zapalnej i stopnia procesu włóknienia w przebiegu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C, oznaczanie surowiczej aktywności aminotransferaz oraz ocena histopatologiczna bioptatu wątroby, okazały się nie spełniać w pełni wymogów diagnostycznych. Jak pisze Autorka pracy we *Wstępie* do swojego Opracowania, u części pacjentów nie stwierdzano korelacji między wspomnianą aktywnością enzymatyczną a stopniem zaawansowania zmian martwiczo-zapalnych i włóknieniowych w bioptacie tkanki wątrobowej, z drugiej zaś strony, uważana za złoty standard w ocenie zaawansowania włóknienia, biopsja wątroby, okazała się wiązać z wieloma ograniczeniami, takimi jak inwazyjność zabiegu, błąd próbkowania, ryzyko powikłań, czy zmienność w ocenie patomorfologicznej. Z powyższych względów wskazano na zasadność stosowania nieinwazyjnych metod diagnostycznych, takich jak biochemiczna ocena wybranych biomarkerów we krwi osób chorych, czy też metody elastografii – ultradźwiękowej, lub rezonansu magnetycznego, do oceny tkanki wątrobowej. Choć opracowano szereg nieinwazyjnych algorytmów oceny stopnia zaawansowania włóknienia tkanki wątrobowej u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C, to – jak wykazano w badaniach klinicznych, nie są one przydatne w diagnostyce pacjentów każdej grupy chorych z CHC, dotycząc bowiem zjawiska, kiedy uwzględniana we wspomnianych algorytmach wartość enzymatycznej aktywności, tj. aminotransferazy alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST) nie koreluje w rzeczywistości ze stopniem zwłóknienia wątroby, lub, odwrotnie – kiedy aktywność ALT i AST – w przypadku pacjentów skąpoobjawowych, nie odpowiada rzeczywistemu zaawansowaniu zmian histologicznych w wątrobie. Jak wykazały badania doświadczalne i kliniczne, obiecującym kandydatem do roli surowiczego biomarkera oceny stopnia włóknienia wątroby może okazać się pentraksyna 3, – białko ostrej fazy, zaangażowane m.in. w proces fibrogenezы w tkance wątrobowej.

Zagadnieniom tym poświęcone były także wcześniejsze badania Pani Promotor oraz Doktorantki, opisane na łamach kilku publikacji, w tym tych, które stały się

podstawą niniejszej dySSERTacji, oraz – prezentowane na konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym. Dlatego też wybór tematu pracy doktorskiej, będącego rozwinięciem wyżej przedstawionej problematyki badawczej, realizowanej z sukcesem od lat pod kierunkiem Pani dr hab. Jolanty Zuwała-Jagiełło uważam za trafny, zgodny z aktualnym stanem wiedzy.

Ocenianą rozprawę doktorską stanowi monotematyczny cykl trzech publikacji, dwóch eksperymentalnych i jednej poglądowej. Prace eksperymentalne zamieszczono na łamach prestiżowych, o międzynarodowym zasięgu czasopism, takich jak *BioMed Res Int* oraz *Pol Arch Int Med*, znajdujących się na tzw. Liście filadelfijskiej. Ich łączny współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 5.079, zaś punktacja MNiSW wynosi 190. Doktorantka jest pierwszym Autorem tych prac. Wspomniany cykl publikacji obejmuje pracę poglądową, także z pierwszym autorstwem Doktorantki, zamieszczoną na łamach *Farmacji Polskiej*. Zbiór omawianych publikacji opatrzony jest Opracowaniem, na które składają się: *Wstęp* – wprowadzający czytelnika w zagadnienia etiopatogenezy i diagnostyki wirusowego zapalenia wątroby typu C; *Wybrane aspekty dotyczące budowy i funkcji pentraksyny 3 (PTX3)* – rozdział przedstawiający podstawowe informacje na temat właściwości i biologicznych funkcji oraz roli tej glikoproteiny w patomechanizmie włóknienia wątroby (choć ten rozdział mógł być z powodzeniem częścią *Wstępu*); *Cel pracy* – przekonująco uzasadniający wybór podjętych zadań badawczych; *Cykl publikacji będący podstawą rozprawy doktorskiej* – rozdział przedstawiający dane bibliograficzne na temat trzech publikacji; *Pacjenci i metody* – rozdział, gdzie Doktorantka przedstawiła: - charakterystykę kliniczną badanych osób, - kryteria wyłączenia pacjentów z badań oraz kryteria włączenia osób do grupy kontrolnej, - podział grupy badanej na treningową i walidacyjną (w grupie treningowej wyodrębniła 2 podgrupy, których pacjenci różnili się stopniem zaawansowania włóknienia wątroby), - badania biochemiczne oraz ocenę histopatologiczną bioptatów wątroby, - modele oceniające stopień zaawansowania włóknienia wątroby, opracowane dla pacjentów z CHC, oraz punktową skalę MELD, oceniającą stopień niewydolności wątroby, - metodologię tworzenia własnego modelu oceniającego zaawansowanie włóknienia w tkance wątrobowej, oraz - metody analiz statystycznych; *Najważniejsze wyniki badań własnych* – rozdział zawierający syntetyczne zestawienie opisanych w publikacjach efektów badań; *Podsumowanie* – rozdział wskazujący na nowatorstwo uzyskanych wyników badań, oraz – na potencjalne znaczenie aplikacyjne uzyskanych wyników, tj, ocenę PTX 3 jako pojedynczego biomarkera zaawansowania procesu włóknienia, i – jako elementu wieloparametrowego modelu diagnostycznego *Pentra score*, użytecznego w nieinwazyjnej ocenie przewidywania włóknienia wątroby w przebiegu CHC; - *Piśmiennictwo*; - *Załączniki* (zał. 1 - 3) – to manuskrypty 3 publikacji stanowiących rozprawę doktorską, (zał. 4) – to potwierdzone przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu: dane bibliograficzne dotyczące cyklu publikacji oraz dotyczące całkowitego dorobku naukowego Doktorantki, Opinia Komisji Bioetycznej, Oświadczenia Współautorów publikacji, które stanowią rozprawę doktorską, określające indywidualny wkład Współautorów w powstanie poszczególnych prac.

Dokumentacja przedłożona przez Doktorantkę obejmuje ponadto – jako osobny Załącznik - streszczenie pracy, przedstawione w wersji polsko – i anglojęzycznej.

Całkowity dorobek naukowy Doktorantki, obejmujący 17 publikacji, zamieszczonych w czasopismach polskich i o zasięgu międzynarodowym, opisany jest wartościami IF, wynoszącymi 8.184, i łączną punktacją MNiSW, wynoszącą 343. Dorobek ten obejmuje ponadto współautorstwo 3 skryptów do ćwiczeń dla studentów, oraz – 24 doniesienia zjazdowe, prezentowane na zjazdach krajowych i międzynarodowych.

Przedmiotem dysertacji doktorskiej było opracowanie nieinwazyjnego modelu diagnostycznego (*Pentra score*), z udziałem pentraksyny 3, który pozwalałby na ocenę zaawansowania włóknienia wątroby u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C. Dla realizacji tego ambitnego, nadrzędnego celu pracy, Doktorantka podjęła szereg zadań badawczych, obejmujących: - określenie przydatności diagnostycznej PTX3 w patogenezie CHC, w porównaniu z innymi wskaźnikami procesu włóknienia, takimi jak kwas hialuronowy (HA), czy TGF- β ; - określenie roli PTX3 w stratyfikacji chorych z CHC, pilnie wymagających leczenia przeciwwirusowego; - określenie przydatności diagnostycznej tej glikoproteiny w porównaniu ze stosowanymi modelami oceniającymi zaawansowanie zmian zapalnych i stopień zwłóknienia wątroby (wskaźnik AST/płytki krwi, wskaźnik FIB-4, wskaźnik AST/ALT, wskaźnik GGTP/płytki krwi i pomiar sztywności wątroby metodą elastografii; - określenie przydatności PTX3 w konstruowaniu wyżej wymienionego wieloparametrowego modelu diagnostycznego jak i przydatności diagnostycznej samego modelu *Pentra score*, oraz – jego walidacja.

Doktorantka wykazała (publikacja 1): - dodatnią korelację surowiczego stężenia PTX3 z aktywnością martwiczo-zapalną i stadium histologicznym włóknienia wątroby w przebiegu CHC; - znamienne wyższe surowicze stężenia PTX3 u chorych z istotnym i zaawansowanym włóknieniem, aniżeli u chorych z nieistotnym i umiarkowanym włóknieniem wątroby; - istotne statystycznie korelacje surowiczego stężenia PTX3 z markerami i modelami diagnostycznymi, służącymi do oceny zaawansowania włóknienia, oraz z wartością pomiaru sztywności wątroby metodą elastografii; - przydatność PTX3 – na podstawie analizy ROC – w diagnozowaniu chorych z istotnym włóknieniem wątroby. Ponadto (publikacja 2), Doktorantka oceniła wartość współczynnika determinacji wieloparametrowego modelu *Pentra score*, oraz – wartości pola pod krzywą ROC dla modelu *Pentra score* i innych modeli oceniających zaawansowanie włóknienia wątroby, porównując wartości takich parametrów jak: czułość, swoistość, dodatnia – oraz ujemna wartość predykcyjna oraz dokładność diagnostyczna w zakresie wykrywania istotnego włóknienia.

Przeprowadzone badania pozwoliły na zrealizowanie założonego celu pracy. Wyrazem nowatorskiego charakteru i naukowej wartości badań było opublikowanie ich wyników w renomowanych, wyżej wymienionych czasopismach, o międzynarodowym zasięgu.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na pewne niejasności w tekście Opracowania. I tak, Doktorantka: nie podaje kryteriów wyłączenia z badań osób,

które miałyby stanowić grupę kontrolną; - nie wyjaśnia powodu podziału grupy pacjentów na podgrupę treningową i walidacyjną; - nie wyjaśnia powodu rekrutacji do podgrupy walidacyjnej 20 pacjentów z Kliniki Gastroenterologii i Hepatologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, skoro 72 pacjentów tej podgrupy rekrutowanych było z Kliniki Chorób Zakaźnych i Hepatologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. W załączonych publikacjach Doktorantka nie wspomina o grupie chorych leczonych w SUM w Katowicach. Czy w podgrupie pacjentów rekrutowanych z SUM w Katowicach były wykonane takie same badania biochemiczne, jak u pacjentów hospitalizowanych w Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu? Jaka liczba chorych była wzięta pod uwagę w podgrupie walidacyjnej, zważywszy stwierdzenie Doktorantki, iż .."wykorzystanie retrospektywnej analizy dokumentacji medycznej uzależniono od dostępności badań biochemicznych oraz oceny PTX3, HA i TGFβ"? Z punktu widzenia poprawności określeń stosowanych w diagnostyce laboratoryjnej, zwracam uwagę na niestosowane już obecnie określenie: trójglicerydy, zamiast: triglicerydy. Gdzie wykonywano wszystkie oznaczenia biochemiczne, włączając oznaczenie stężenia: PTX3, HA i TGFβ? Czy w Laboratorium Analitycznym Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. J. Gromkowskiego we Wrocławiu?

Wymienione uwagi, o charakterze redakcyjnym, nie umniejszają mojej bardzo wysokiej oceny niniejszej rozprawy doktorskiej.

Reasumując stwierdzam, iż praca Pani mgr inż. Joanny Górki-Dynysiewicz, nosząca tytuł: „Pentraksyna 3 w modelu własnym oceny zaawansowania włóknienia wątroby u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C” w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim. Ma charakter zarówno poznawczy jak i aplikacyjny, stanowiąc oryginalny i znaczący wkład do współczesnej diagnostyki laboratoryjnej przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C. Stwarza bowiem przesłanki do wprowadzenia nowego, biochemicznego wskaźnika – pentraksyny 3, do oceny stopnia zaawansowania procesu włóknienia wątroby, oraz – do zastosowania opartego na PTX3 i uznanych biochemicznych wskaźnikach włóknienia, wieloparametrowego modelu diagnostycznego, własnego autorstwa, jako nieinwazyjnego narzędzia do przewidywania istotnego włóknienia u chorych z CHC.

Z pełnym przekonaniem przedkładam Panu Przewodniczącemu Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Joanny Górki-Dynysiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, zważywszy elementy nowości naukowej, zawarte w ocenianej rozprawie, zastosowanie złożonego warsztatu metodycznego, a także istotne znaczenie praktyczne opisanych badań, proponuję wyróżnienie pracy.



prof.dr hab.n.med. Krystyna Olczyk