



# UNIWERSYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Chemii i Immunochemii

Wrocław, 01.06.2020r

## **Recenzja rozprawy doktorskiej**

**mgr Joanny Górki-Dynysiewicz**

### **pt. „Pentraksyna 3 w modelu własnym oceny zaawansowania włóknienia wątroby u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C”**

Przedstawiona do oceny praca doktorska została wykonana w Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod opieką Pani dr hab. Jolanty Zuwały-Jagiełło jako promotora oraz Pani dr n. med. Moniki Pazgan-Simon jako promotora pomocniczego. Zespół od wielu lat prowadzi badania w zakresie poszukiwania testów biochemicznych użytecznych w diagnostyce i monitorowaniu terapii przewlekłych chorób wątroby. Tematyka podjęta w pracy doktorskiej przez mgr Joannę Górkę-Dynysiewicz wpisuje się w nurt tych badań i jest jej kontynuacją.

W przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby typu C (CHC) głównym elementem progresji jest włóknienie (fibrogeneracja) narządu, tj. patologiczny proces regeneracji tkanki poprzez tkankę łączną. U połowy zakażonych pacjentów przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C ujawnia się dopiero po wielu latach, w postaci zaawansowanych zmian, a u 20% występuje zwiększone ryzyko wystąpienia marskości lub raka wątrobowokomórkowego. Ze względu na szereg ograniczeń związanych z biopsją wątroby, rekomenduje się stosowanie nieinwazyjnych metod diagnostycznych do oceny tkanki wątrobowej, tj. oznaczenia stężenia biomarkerów oraz elastografię. W przypadku przeciwwskazań zarówno do biopsji, jak i do elastografii wątroby, pacjent jest kwalifikowany do leczenia na podstawie jednego z modeli diagnostycznych opartych o testy biochemiczne. Do oceny stopnia zaawansowania włóknienia wątroby wykorzystuje się algorytmy uwzględniające aktywność aminotransferaz, które są jednak mało przydatne w grupach pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C, takich jak pacjenci z zaostrzeniem choroby i pacjenci skąpoobjawowi. Mając na uwadze powyższe stwierdzam, że podjęty przez Doktorantkę problem badawczy jest aktualny i ważny w kontekście zdrowia publicznego, a uzyskane wyniki niewątpliwie w przyszłości mogą przyczynić się do szerszego i spersonalizowanego zastosowania skonstruowanego algorytmu w praktyce klinicznej oraz w dalszych badaniach naukowych.

Tytuł rozprawy doktorskiej odzwierciedla jej zawartość, praca zawarta jest na 71 stronach i składa się z rozdziałów: Wstęp i Wprowadzenie, Cel Pracy, Pacjenci i Metody, Najważniejsze wyniki badań własnych, Podsumowanie, Piśmiennictwo, Prace naukowe stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej, Oświadczenia współautorów oraz Streszczenie - w języku polskim i angielskim. Spójny tematycznie cykl publikacji obejmuje dwie prace eksperymentalne opublikowane w 2019 i 2020 roku oraz jeden artykuł przeglądowy z 2020 roku. We wszystkich publikacjach wchodzących w skład cyklu Pani mgr Joanna Górka-Dynysiewicz jest pierwszym autorem oraz autorem do korespondencji, a Jej wiodący udział, 70% w dwóch pracach eksperymentalnych oraz 85% w pracy przeglądowej potwierdzony oświadczeniami współautorów, wskazuje, że Doktorantka zarówno podczas badań, jak i przy przygotowywaniu publikacji odegrała wiodącą rolę w sferze koncepcyjnej i wykonawczej. W opinii recenzenta w przypadku rozprawy doktorskiej w formie cyklu prac, zwłaszcza jeśli ukazały się w renomowanych recenzowanych czasopismach z listy *Journal Citation Reports*, należy uwzględnić fakt przejścia ocenianych prac przez rygorystyczny tryb *peer-review*. Prace eksperymentalne stanowiące rozprawę dokorską charakteryzują się wysokim współczynnikiem wpływu IF, odpowiednio *BioMed Res. Int.* **IF=2,197**, *Pol. Arch. Intern. Med.* **IF=2,882**, a łączna wartość cyklu prac **IF= 5,079**, punktacja MNiSW **190**.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma typowy układ z podziałem na poszczególne rozdziały. We wstępie Pani mgr Joanna Górka-Dynysiewicz w przemyślany sposób wprowadza w tematykę zagadnień będących przedmiotem Jej badań. W artykule poglądowym pt. „Pentraksyna 3 i jej rola w odbudowie tkanek” Doktorantka podsumowała aktualny stan wiedzy dot. pentraksyny 3 (PTX 3), białka ostrej fazy, uczestniczącego w aktywacji dopełniacza na drodze klasycznej, ze szczególnym uwzględnieniem komórkowej syntezy oraz molekularnych i funkcjonalnych właściwości. Ponadto, odniosła się do udziału pentraksyny 3 w modulowaniu procesu fibrynolizy, mechanizmach wrodzonej odpowiedzi immunologicznej w naprawie uszkodzonej tkanki oraz w modelach niezakaźnego uszkodzenia tkanek. W opinii Doktorantki „*Zaangażowanie pentraksyny 3 w uszkodzenie/proces przebudowy tkanek uwypukliły związek oraz wzajemne oddziaływanie pomiędzy homeostazą a odpornością*”.

Doktorantka w sposób przejrzysty i precyzyjny zdefiniowała główny cel, tj. opracowanie nieinwazyjnego modelu diagnostycznego z udziałem PTX3 oceniającego zaawansowanie włóknienia wątroby u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C z zastosowaniem zaawansowanych metod matematycznych oraz cele szczegółowe (7) swoich badań, których wyniki zawarła w 2 pracach eksperymentalnych omawianego cyklu. Badania zostały przeprowadzone na próbkach od 282 osób, w tym 242 pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C oraz 40 zdrowych ochotników. Pacjentów podzielono na dwie grupy: „grupę treningową” oraz „grupę walidacyjną”, a kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów zostały precyzyjnie zdefiniowane. Dodatkowo, pacjentów w obu grupach podzielono na dwie podgrupy, tj. z brakiem istotnego włóknienia oraz z istotnym włóknieniem (włóknieniem wrotnym i okołowrotnym oraz rzadkimi przegrodami). Doktorantka na swoje badania uzyskała stosowną zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (nr KB-477/2017). Metody

biochemiczne oraz narzędzia statystyczne zastosowane przez Doktorantkę są adekwatne do realizacji założonych celów badań. Tworzenie własnego modelu oceniającego zaawansowanie włóknienia poprzedziło poszukiwanie korelacji zmiennych diagnostycznych, tj. PTX3, transformującego czynnika wzrostu- $\beta$ 1 i kwasu hialuronowego oraz porównanie ich stężeń w grupie pacjentów z istotnym ( $F \geq 2$ ) i zaawansowanym stopniem ( $F \geq 3$ ) włóknienia wątroby. W kolejnym etapie oceniono skuteczności szacowania istotnego włóknienia ( $F \geq 2$ ) przez pojedyncze parametry oraz przez wybrane modele oceniające stopień zaawansowania włóknienia wątroby opracowane dla pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C w oparciu o analizę ROC. Do tworzenia modelu własnego *Pentra score* posłużono się procedurą regresji logistycznej, a następnie zweryfikowano przydatność opracowanego modelu w identyfikacji chorych z istotnym stopniem włóknienia wątroby za pomocą analizy ROC. Ilość oraz różnorodność wykonanych analiz statystycznych oraz uzyskane wyniki świadczą o bardzo dobrym opanowaniu warsztatu badawczego przez Doktorantkę, wskazują na Jej dojrzałość naukową oraz dużą wiedzę w zakresie planowania i prowadzenia eksperymentów.

Zwieńczeniem rozprawy doktorskiej jest szczegółowe omówienie i podsumowanie uzyskanych wyników, przeprowadzone prawidłowo, co pozwala ocenić oryginalność oraz nowatorstwo przeprowadzonych badań. Doktorantka poddaje dyskusji wyniki badań, które stanowią pierwszą jednoczasową ocenę surowicznych stężeń pentraksyny 3, transformującego czynnika wzrostu- $\beta$ 1 i kwasu hialuronowego u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C w korelacji ze stopniem zaawansowania włóknienia wątroby. Ponadto, sugeruje, że „*PTX3 jako pojedynczy biomarker, oceniający stopień zaawansowania procesu włóknienia, może być wykorzystana do stratyfikacji pacjentów z CHC na grupy z istotnym i zaawansowanym włóknieniem*”. Skonstruowany przez Doktorantkę wieloparametrowy model diagnostyczny *Pentra score* uwzględniający pomiar stężenia PTX3 i uznanych biochemicznych wskaźników włóknienia charakteryzuje się umiarkowaną swoistością oraz 100% czułością diagnostyczną i może stanowić nieinwazyjne narzędzie wykorzystywane w przewidywaniu istotnego włóknienia u pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C. Ponadto, wartość dodaną dla testu *Pentra score* w porównaniu do *APRI index* i *FIB-4 score* (które posiadają w swoich algorytmach takie zmienne jak pomiary aktywności AST i ALT) jest pomiar surowiczego stężenia PTX3, który odzwierciedla aktywację komórek gwiazdzistych, kluczowy etap w procesie fibrogenyzy. Zastosowane dedykowane analizy statystyczne pozwoliły na zrealizowanie w całości założonych celów, a uzyskane w trakcie realizacji pracy doktorskiej wyniki stanowią istotny wkład w aktualny stan wiedzy. Poprawna analiza w odniesieniu do założonych celów pracy jest dowodem na duże doświadczenie naukowe zdobyte w czasie wykonywania zadań badawczych. Od strony formalnej, recenzent czuje jednak pewien niedosyt spowodowany brakiem 2-3 wniosków podsumowujących, które stanowią stały element rozpraw doktorskich. Natomiast jeden wniosek został zamieszczony przez Doktorantkę w Streszczeniu.

Rozprawa doktorska jest napisana poprawnym językiem, chociaż Doktorantka nie uniknęła drobnych błędów językowych oraz niefortunnych sformułowań, tj. „długiej” rodziny pentraksyn (str. 8), „stopienia” włóknienia (str. 11) czy skrótów myślowych „krótkie

pentraksyny” (str. 8). Moja uwaga dotyczy także zapisu m.in. wartości „P” - w języku polskim powinno być „p”, a wartości liczbowe z przecinkiem, zamiast kropki (dotyczy wartości liczbowych podawanych w rozprawie, w tym wartości %). Zamieszczone tutaj uwagi i wątpliwości nie mają wpływu na moją bardzo wysoką ocenę pracy.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Górki-Dynysiewicz pod tytułem *„Pentaksyna 3 w modelu własnym oceny zaawansowania włóknienia wątroby u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C”* ma oryginalny oraz nowatorski charakter, a przedstawione w niej wyniki badań wykazują cechy nowości naukowej. Po całkowitej ocenie przedstawionej rozprawy doktorskiej z całą pewnością stwierdzam, iż **spełnia ona wszystkie zwyczajowe i ustawowe wymagania określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz., 595, z późn. zm.)** i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr Joanny Górki-Dynysiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę wartość merytoryczną prac stanowiących rozprawę doktorską oraz potencjalną aplikacyjność kliniczną uzyskanych wyników badań wnioskuję o **wyróżnienie rozprawy doktorskiej.**

Magdalena Orczyk-Pawłowska