GDAŃSKI
UNIWERSYTET
MEDYCZNY

www.gumed.edu.pl
58 349 11 11
info@gumed.edu.pl
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a,
80-210 Gdańsk

Gdańsk, 28.08.2023 r.

Prof. dr hab. med. Agnieszka Szlagatys-Sidorkiewicz
Klinika Pediatrii, Gastroenterologii, Alergologii i Żywienia Dzieci
Gdański Uniwersytet Medyczny
Ul. Nowe Ogrody 1-6, 80-803 Gdańsk

Recenzja rozprawy pt.: „Uszkodzenie wątroby związane z żywieniem pozajelitowym i wpływ żywienia pozajelitowego na poziom stresu oksydacyjnego przewlekle żywionych pacjentów" mgr Karoliny Dąbrowskiej z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego .

Promotor: Dr hab. n med. Jacek Sobocki, prof. CMKP

Żywienie pozajelitowe jest metodą postępowania w niewydolności jelitowej, zapewniającą odpowiednią do sytuacji klinicznej podaż makro- i mikroskałdników odżywczych. Niewydolność jelitowa może mieć charakter ostry, przejściowy, ale u części chorych jest stanem przewlekłym wymagającym długotrwałego stosowania żywienia pozajelitowego. Stąd też zagadnienia bezpieczeństwa stosowania tej terapii ma kluczowe znaczenie dla pacjentów, których życie i stan zdrowia uzależniony jest od podaży dożylnej substancji odżywczych a także od powikłań związanych z tą metodą.

Najczęstsze powikłania żywienia pozajelitowego to powikłania infekcyjne, zakrzepowe, metaboliczne oraz narządowe, w tym ze strony układu kostnego, moczowego oraz wątroby. Zbiór powikłań ze strony wątroby określany jest w literaturze jako PNALD

(*Parenteral Nutrition Associated Liver Disease*) - czyli choroba wątroby związana z żywieniem pozajelitowym, chociaż w ostatnich latach powszechniej stosowane jest pojęcie IFALD (Intestinal Failure Associated Liver Disease) – czyli choroba wątroby związana z niewydolnością jelitową – jako pojęcie szersze, uwzględniające wszystkie przyczyny powikłań wątrobowych czyli te bezpośrednio związanych z żywieniem pozajelitowym (skład mieszaniny żywieniowej, rodzaj stosowanej emulsji lipidowej, właściwa podaż węglowodanów, obecność substancji o działaniu niekorzystnym zawartych w mieszaninach takich jak glin, nikiel, mangan, fitosterole a także produkty reakcji z udziałem reaktywnych form tlenu) jak i te, które są bezpośrednimi konsekwencjami niewydolności jelitowej (brak żywienia dojelitowego, zaburzenia szczelności bariery jelitowej, zaburzenia krążenia jelitowo-wątrobowego, zmiana profilu mikrobiomu jelitowego) oraz powikłania z niewydolnością jelitową związane (powikłania infekcyjne, zatorowo-zakrzepowe czy metaboliczne, stosowane leki). Wydaje się zatem, że ta szersza definicja zespołu objawów, uznawana również przez ESPEN (European Society for Cinical Nutrition and Metabolism) w pełniejszy sposób oddaje obraz zjawisk zachodzących u chorych z niewydolnością jelitową. Częstość występowania powikłań wątrobowych jest trudna do oszacowania, ponieważ dane literaturowe są niejednoznaczne, w zależności od badanej populacji, ośrodka prowadzącego terapię a także definicji schorzenia odsetek powikłań wynosi od 10-85%, jakkolwiek dane z ostatnich lat wykazują istotne zmniejszenie częstości występowania tych powikłań. U dorosłych najczęściej obserwuje się stłuszczenie wątroby, rzadziej zapalenie dróg żółciowego czy okołowrotne nacieki zapalne. U dzieci natomiast, IFALD najczęściej przebiega pod postacią przewlekłej cholestazy wewnątrzwątrobowej. Choroba ma charakter postępujący, u około 25% prowadzi do niewydolności wątroby, w przypadku której jedynym leczeniem ratującym życie jest przeszczep wątroby. Zapobieganie powikłaniom wątrobowym wymaga interdyscyplinarnego podejścia od początku leczenia i polega na utrzymanie oraz maksymalizacja podaży pokarmu do przewodu pokarmowego, odtworzenia w miarę możliwości ciągłości przewodu pokarmowego, prewencji zakażeń, optymalizacji składu mieszaniny do żywienia pozajelitowego oraz cyklizacji podaży żywienia.

Zrozumienie patomechanizmów uszkodzenia wątroby w trakcie żywienia pozajelitowego jest niezwykle istotnymi kierunkiem badań, mającym poza znaczeniem teoretycznym również istotny wymiar praktyczny mogący znaleźć zastosowanie w codziennej

praktyce klinicznej. Podjęcie przez Doktorantkę tematyki uszkodzenia wątroby w trakcie żywienia pozajelitowego, uważam za niezwykle trafne i cenne z punktu widzenia długofalowego bezpieczeństwa pacjentów żywionych pozajelitowo.

Ocena formalna

Przedstawiona mi do recenzji praca obejmuje krótki wstęp teoretyczny, z opisem przedmiotu badań oraz założeń rozprawy doktorskiej wraz z cyklem 3 publikacji z lat 2022-2023, w tym 2 prac oryginalnych i jednej pracy poglądowej. Wszystkie prace zostały opublikowane w języku angielskim. Sumaryczna punktacja cyklu publikacji wynosi 200 pkt. MNiSW a współczynnika oddziaływania IF=7,584. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. Załączone zostały oświadczenia współautorów dotyczące wkładu pracy oraz zgody na wykorzystanie ww. publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych. Zgodnie z deklaracjami współautorów udział Doktorantki w przygotowaniu prac był kluczowy, został oceniony na 50-68% i dotyczył wszystkich etapów pracy badawczej (opracowania metodologii, zbieranie i analiza danych, przegląd literatury oraz opracowanie manuskryptu).

Projekt badawczy uzyskał zgody Komisji Bioetycznej przy Centrum Medycznym Kształcenia Podyplomowego w Warszawie nr 94/2021 z dnia 10 listopada 2021 oraz nr 98/2021 a dnia 8 grudnia 2021 roku.

Ocena merytoryczna

Za cele badania Doktorantka postawiła:

1. Omówienie mechanizmów przyczyniających się do dysfunkcji wątroby związanych z żywieniem pozajelitowym oraz omówieni metod profilaktyki i leczenia PNALD.
2. Ocenę aktywności aminotransaminaz jako markera dysfunkcji wątroby u pacjentów otrzymujących domowe żywienie pozajelitowe.
3. Porównanie stężenia aminotransferaz w zależności od tempa zużycia tlenu w mitochondriach płytek krwi u pacjentów długotrwale żywionych pozajelitowo z nasileniem stresu oksydacyjnego indukowanego przez emulsje lipidowe.

4. Omówienie roli emulsji lipidowych w komórkowym metabolizmie energetycznym i w zmianach w wątrobie na podstawie procentowego uszkodzenia genomowego DNA.

Cykl przedstawionych do recenzji publikacji obejmuje 3 pozycje:

1. Dąbrowska K, Zaczek Z, Złotogórska K, Majewska K, Kaczanowska J, Sobocki J. Activity of aminotransferases as a marker of liver injury in home parenteral nutrition patients. Clinical and Experimental Hepatology, 2002, 8, 2.

2. Dąbrowska K, Zaczek Z, Majewska K, Sobocki J/ Liver complications ot total parenteral nutrition: the latest therapeutic strategies. Advances in Hygiene and Experimental Medicine (PHMD), 2023, 77, 21-26

3. Dąbrowska K, Zaczek Z, Panczyk M, Osowska S, Kowalczyk P, Kramkowski K, Sobocki J. Molecular Oxygen Levels and Percentage of DNA Damage in TPN Patients. Nutrients, 15, 2206.

W pierwszej przedstawionej do recenzji pracy Doktorantka wraz z zespołem podjęła się oceny częstości występowania podwyższonej aktywności aminotransferaz (ALT i AST) jako markera PNALD u pacjentów żywionych pozajelitowo w warunkach domowych pozostających pod opieką ośrodka referencyjnego. Badanie miało charakter retrospektywnej analizy dokumentacji obejmującej 9-letni okres i objęło 251 pacjentów. Analiza dotyczyła składu mieszaniny do żywienia pozajelitowego oraz wyników badań laboratoryjnych: stężenie bilirubiny całkowitej, aktywność aminotransferaz (ALT, AST), INR oraz stężenie albuminy. Spośród 251 pacjentów do dalszych analiz utworzono 3 grupy: grupa 0 - pacjentów, którzy zmarli w czasie obejmującym analizę (n=63), grupa 1 – pacjentów, którzy uniezależnili się od żywienia pozajelitowego w wyniku uzyskania autonomii jelitowej (n=57), grupa 2 – pacjentów nadal otrzymujących żywienie pozajelitowe (n=131). W grupie 2 – częstość występowania nieprawidłowych badań biochemicznych (podwyższenie stężenia bilirubiny całkowitej, ale bez innych nieprawidłowości w postaci podwyższenia aktywności aminotransferaz, obniżenia stężenia albuminy i wydłużenia INR) wyniosła 8,3%, zaobserwowano również trend do wzrostu stężenia bilirubiny wraz z czasem trwania żywienia pozajelitowego a także całkowitą ilością lipidów podawanych w mieszaninie do żywienia pozajelitowego. Ponadto średnie stężenie bilirubiny całkowitej było wyższe w

przypadku braku żywienia do przewodu pokarmowego. We wniosku Doktorantka wraz z zespołem na podstawie niższego odsetka powikłań wątrobowych w analizowanej populacji niż w publikacjach pochodzących z innych ośrodków sugeruje, że może wynikać to z dobrze zbilansowanego, zindywidualizowanego programu żywienia pozajelitowego.

Zabrakło mi w dyskusji odniesienia się do tytułu pracy, który sugerowałby ocenę przydatności oznaczania aktywności aminotransferaz jako markera powikłań wątrobowych, Opublikowane wyniki poddają w wątpliwość takie stwierdzenie, ponieważ to stężenie bilirubiny całkowitej w badanym materiale definiowało występowanie powikłań wątrobowych i nie towarzyszyło temu wzrostowi podwyższenie aktywności aminotransferaz. Dodatkowo w ocenie podaży makroskładników odżywczych (węglowodanów i lipidów) dużo wyższą wartość dowodową miałaby analiza podaży w odniesieniu do masy ciała pacjenta. Sugerowałabym również ocenę w jaki sposób rodzaj podawanych emulsji lipidowych wpływa na częstość występowania powikłań wątrobowych. Dopiero taka analiza pozwoliłaby na zweryfikowanie tezy, że indywidualizacja leczenia żywieniowego ma znaczenie w zapobieganiu powikłań wątrobowych.

Publikacja nr 2 ma charakter pracy poglądowej, w której przedstawione zostały mechanizmy rozwoju i strategii terapeutycznych w powikłaniach wątrobowych. Analizie poddano kontrolowane badania kliniczne oraz badania z randomizacją dotyczące zapobiegania, progresji oraz leczenia PNALD. W sposób systematyczny opisane zostały czynniki ryzyka rozwoju PNALD: głodzenie, zaburzenie krążenia wątrobowo-jelitowego, zaburzenia związanego z metabolizmem węglowodanów (insulinooporność, hiperglikemia), zaburzenia mikrobiomu jelitowego, zaburzenia immunologiczne, znaczenie rodzaju podawanych emulsji tłuszczowych. W dalszej części artykułu opisano strategie interwencyjne oraz ich efekty u pacjentów z PNALD.

Publikacja nr 3 jest zdecydowanie najcenniejszą publikacją o najwyższym ciężarze merytorycznym w przedstawionym mi do recenzji cyklu prac. Za cel pracy Doktorantka wraz z zespołem postawiła sobie porównanie stężenia aminotransferaz w zależności od tempa zużycia tlenu w mitochondriach płytek krwi u pacjentów długotrwale żywionych pozajelitowo z nasileniem stresu oksydacyjnego indukowanego przez emulsje lipidowe. Badanie objęło 86 pacjentów żywionych pozajelitowo w warunkach domowych. Oceniono

zużycie tlenu przez mitochondria płytek krwi oraz stopień oksydacyjnego uszkodzenia DNA. Stwierdzono, że zużycie tlenu u pacjentów przez mitochondria płytek krwi u pacjentów żywionych pozajelitowo było istotnie wyższe (33%) niż w grupie referencyjnej ludzi zdrowych (18%). W grupie badanej podwyższony poziom utlenowania mitochondriów płytek krwi stwierdzono w 67% przypadków. Zaobserwowano ponadto odwrotną zależność pomiędzy aktywnością ALT a zużyciem tlenu przez mitochondria, co może wiązać się z natężeniem reakcji oksydacyjnego uszkodzenia DNA u pacjentów z podwyższoną aktywnością ALT. Stwierdzono również, że ilość tlenu zużywanego przez mitochondria płytek krwi zależy od rodzaju stosowanej w żywieniu pozajelitowym emulsji lipidowej, w przypadku emulsji na bazie oliwek zużycie tlenu jest najniższe, jednak odsetek uszkodzeń DNA jest najwyższy.

Powyższe badanie miało charakter innowacyjny, po raz pierwszy bowiem zastosowano metody oceny uszkodzenia oksydacyjnego DNA przy użyciu białka Fpg oraz oceny mitochondrialnego zużycia tlenu u pacjentów żywionych pozajelitowo. Wyniki badania pozwalają na postęp w dziedzinie zrozumienia złożonych relacji pomiędzy metabolizmem emulsji lipidowych podawanych w żywieniu pozajelitowym a natężeniem stresu oksydacyjnego i jego skutkami w postaci oksydacyjnych uszkodzeń białek, lipidów i DNA oraz komórkowym metabolizmem energetycznym.

Przedstawione mi do recenzji prace, stanowią cykl spójnych, logicznie ze sobą powiązanych projektów naukowych z jasno wytyczoną przewodnią myślą badawczą. Badania zostały prawidłowo zaplanowane, z dobrze dobraną metodologią i konsekwentnie przeprowadzone. Co warte podkreślenia, badania te mają charakter nowatorski, wykorzystujący współpracę z innymi ośrodkami badawczymi. Doktorantka bardzo dobrze opanowała warsztat naukowy i wykazała się wiedzą teoretyczną oraz umiejętnością zaplanowania i skutecznego przeprowadzenia projektu badawczego. Wykazała się również umiejętnością stworzenia zespołu badawczego zdolnego do realizacji zadania. Uzyskane wyniki projektów badawczych stanowią istotny wkład na rzecz zrozumienia patomechanizmów prowadzących do rozwoju objawów u pacjentów z chorobą wątroby związaną z niewydolnością wątroby.

Stwierdzam zatem, że przedstawiona mi do oceny rozprawa mgr Karoliny Dąbrowskiej pt.: „Uszkodzenie wątroby związane z żywieniem pozajelitowym i wpływ

żywienia pozajelitowego na poziom stresu oksydacyjnego przewlekle żywionych pacjentów" spełnia warunki stawiane dysertacjom doktorskim [określone w art. 13 Ustawy z dnia 14marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz, U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) w związku z art. 179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 roku poz.1669 z późniejszymi zmianami)], co upoważnia mnie do wystąpienia z wnioskiem do Rady Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego aby dopuściła Doktorantkę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Katedry i Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii, Alergologii i Żywienia Dzieci

prof. dr hab. med. Agnieszka Szlagatys-Sidorkiewicz