

Gdańsk, 12 marzec 2019 r.

dr hab. n. med. Edyta Szurowska, prof. nadzw.
II Zakład Radiologii
Wydział Nauk o Zdrowiu z OP i IMMiT
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

**Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych
lekarz Karoliny Grąt z II Zakładu Radiologii Klinicznej WUM:
„Znaczenie predycyjne tomografii komputerowej w transplantacji wątroby
z powodu raka wątrobowokomórkowego”**

wykonanej pod kierunkiem naukowym promotora prof. dr hab. n. med. Ryszarda Pacho.

Podstawą prawną wykonania recenzji stanowi pismo Dziekana I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego nr APL-5910-D-3595/4/2019 z dnia 23.01.2019, zgodnie z uchwałą Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego podjętą w dniu 23.12.2019.

Rak pierwotny wątroby jest jednym z częstszych nowotworów występujących u ludzi i stanowi trzecią co do częstości przyczynę zgonów z powodu choroby nowotworowej na świecie (wg. *Global Cancer Statistics* z 2018r). Rak wątrobowokomórkowy (*hepatocellular carcinoma* - HCC) jest jego najczęstszą postacią i w ok. 85-90% przypadków rozwija się na podłożu marskości lub innych przewlekłych chorób wątroby. Prognozy dotyczące zachorowalności na HCC są niepokojące - przewidują stały wzrost zapadalności na ten nowotwór w Europie i innych regionach świata. Podobnie niekorzystne jest rokowanie u chorych z rakiem wątrobowokomórkowym, a szansę na długoletnie przeżycie i wyleczenie stwarza jedynie doszczętna resekcja lub transplantacja wątroby, możliwa u chorych z bardzo wczesną i wczesną postacią HCC (według BCLC - *Barcelona Clinic Liver Cancer*).

Badania przeprowadzone na dużych grupach pacjentów pozwoliły na wyróżnienie wykładników wskazujących na zwiększone ryzyko nawrotu HCC u chorych poddanych transplantacji lub resekcji wątroby. Jako czynniki determinujące wznowę choroby wymienia się naciekanie naczyń, stopień złośliwości histologicznej guza, jego wielkość i liczbę ognisk. Część autorów zwraca także uwagę na sprzyjające wznowie cechy morfologiczne HCC, takie jak brak torebki czy jej przerwanie. Natomiast wśród parametrów predycyjnych zgonu po transplantacji wątroby chorych z HCC obciążonych marskością wątroby wymienia się poziom AFP, większy stopień zaawansowania guza, nie spełniający kryteriów mediolańskich oraz kryteriów „Up to 7”, niekorzystny stosunek granulocytów obojętnochłonnych do limfocytów czy wysoki całkowity poziom cholesterolu oraz inne. W ostatnich latach zwraca się coraz większą uwagę na takie czynniki ryzyka zgonu jak sarkopenia, otyłość czy cukrzyca u pacjentów z różnymi nowotworami. Przybliżoną masę mięśniową, otyłość brzuszną wyrażoną obwodem brzucha czy zawartość tkanki tłuszczowej można określić na podstawie badań

obrazowych TK i MRI. Metody te są coraz szerzej wykorzystywane w badaniach naukowych do oceny ryzyka zarówno zgonu jak i zapadalności na różne choroby.

Wybór tematyki pracy doktorskiej, w której lekarz Karolina Grąt ocenia rokownicze znaczenie tomografii komputerowej u chorych z HCC leczonych transplantacją wątroby, uważam za aktualny i bardzo interesujący, zarówno z naukowego, jak też praktycznego punktu widzenia. Autorka analizuje morfologiczne cechy nowotworu, widoczne w wielofazowym badaniu TK, parametry guza opisane w badaniu histopatologicznym, takie jak np. naciekanie naczyń czy jego zróżnicowanie histologiczne oraz cechy charakteryzujące ogólny stan pacjentów, te uzyskane na podstawie danych klinicznych oraz badania TK (np. iloraz pól powierzchni tkanki tłuszczowej wewnątrzbrzuszej, podskórnej, mięśni lędźwiowych większych i pole powierzchni wszystkich mięśni na wys. L3 przez wzrost chorego w metrach do kwadratu). Nie znalazłam publikacji omawiających potencjalny związek sarkopenii (utrata masy mięśniowej z osłabieniem ich funkcji) i zawartości tkanki tłuszczowej z nawrotem oraz ryzykiem zgonu chorych poddanych transplantacji z HCC w marskiej wątrobie. Istnieją pojedyncze prace dotyczące sarkopenii jako czynnika ryzyka zgonu u chorych po hemihepatektomii oraz ryzyka powikłań po transplantacji, a także korelacji pomiędzy utratą masy mięśniowej i zwiększonym poziomem AFP. Przegląd piśmiennictwa wykonany przez recenzentkę potwierdza oryginalny charakter dysertacji i pokrywa się z przemyśleniami Doktorantki, ujętymi w „Dyskusji”

Tytuł pracy doktorskiej jak najbardziej odpowiada zawartej w niej treści.

Rozprawa doktorska lek. Karoliny Grąt obejmuje 132 strony; podział pracy jest typowy dla rozpraw na tytuł naukowy i zawiera następujące rozdziały: spis tabel, spis rycin, skróty używane w pracy, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cele, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo. Warto nadmienić, że praca uzyskała pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym w dn. 12.12.2017.

Wstęp stanowi usystematyzowane kompendium wiedzy dla lekarzy radiologów i innych specjalności, umożliwiające zapoznanie się z problematyką rozpoznania i leczenia raka wątrobowokomórkowego, w którym wyczerpująco zostały przedstawione zagadnienia, takie jak: epidemiologia, patofizjologia i czynniki ryzyka, molekularne podstawy rozwoju HCC, obraz histologiczny, klasyfikacja TNM, objawy kliniczne, diagnostyka laboratoryjna i obrazowa oraz leczenie. Rozdział ten jest bardzo dobrze napisany, zostały w nim uwzględnione zarówno czynniki ryzyka rozwoju HCC, jak i operacyjne (resekcja i przeszczep wątroby) oraz lokoregionalnie metody leczenia. W podrozdziale dotyczącym obrazowania MRI zabrakło mi informacji o wykorzystaniu środków kontrastujących hepatotropowych do wykrywania HCC oraz ich znaczeniu w systemie LiRADS, niemniej pozostały opis metod diagnostycznych z omówieniem roli ultrasonografii ze wzmocnieniem kontrastowym jest wyczerpujący. Kolejnym punktem dysertacji są cele pracy, przedstawione w 3 punktach o następującym brzmieniu:

1. Ocena wpływu ilości wewnątrzbrzuszej, podskórnej i całkowitej ilości tkanki tłuszczowej na ryzyko nawrotu HCC i przeżycie po przeszczepieniu.

2. Ocena wpływu ilości całkowitej tkanki mięśniowej i ilości tkanki mięśni lędźwiowych większych na ryzyko nawrotu HCC i przeżycie chorych leczonych przeszczepieniem wątroby.
3. Określenie cech HCC w obrazach tomografii komputerowej, mających wpływ na nawrót nowotworu i przeżycie ogólne po przeszczepieniu.

Przy publikacji pracy proponowałabym unikanie sformułowania „ilość” w odniesieniu do mierzalnych na przekrojach TK pól powierzchni tkanki tłuszczowej czy mięśniowej. Ponadto w tej sekcji brakuje mi także ujęcia hipotezy badawczej, chociaż zgodnie z zaleceniami odpowiedniego Wydziału nie jest ona niezbędna (wymagana).

Recenzowana dysertacja jest pracą retrospektywną, opartą na reprezentatywnej liczbie 77 chorych poddanych przeszczepieniu wątroby z potwierdzonym histopatologicznie rakiem wątrobowokomórkowym w wyciętej wątrobie, z czego w przedoperacyjnych badaniach TK nowotwór stwierdzono jedynie u 56 chorych. Biorąc pod uwagę unikatowy charakter badanej grupy, jej liczebność uważam za w zupełności wystarczającą. Chorych podzielono na grupę incydentalną (21 chorych bez zmian w badaniu TK) oraz nieincydentalną (56 osób ze zmianami w badaniu TK).

Ze zwykłej „ciekawości” radiologicznej chciałabym wiedzieć, czy Doktorantka przeanalizowała badania TK tych 21 osób, u których HCC rozpoznano jedynie na podstawie badania histopatologicznego i czy w ocenie retrospektywnej widziała objawy HCC na skanach TK opisanych jako prawidłowe.

Pewnym ograniczeniem niniejszej pracy jest wykonanie badań TK na różnych aparatach (co powinno być ujęte w sekcji „ograniczenia badania”) w II Zakładzie Radiologii Klinicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, jednak biorąc pod uwagę długi okres (styczeń 2006 – czerwiec 2017) z jakiego analizowano dane, jest to sytuacja niemożliwa do uniknięcia. Jako lekarze praktycy często porównujemy badania tego samego chorego wykonane na różnych aparatach w celu podjęcia decyzji terapeutycznych i traktujemy je jako wiążące, podobnie należy podejść do obrazów uzyskanych na potrzeby niniejszego projektu.

Wśród cech morfologicznych ocenianych w badaniu TK znalazły się cechy ilościowe takie jak liczba i wielkość ognisk oraz jakościowe np. obecność torebki, regularność zarysów guza czy wzmocnienie tkanki wokół guza. Oceniano także iloraz pól powierzchni, zawierających tkankę tłuszczową lub mięśniową przez wzrost chorego w metrach do potęgi drugiej. Pomiary pól tkanki tłuszczowej i mięśniowej przeprowadzano na wys. kręgu L3 i dotyczyły one wewnątrzbrzuszej tkanki tłuszczowej, tkanki tłuszczowej podskórnej oraz całkowitej, a także mięśni lędźwiowych większych i wszystkich mięśni widocznych na poziomie L3. Na rycinach pokazane zostały przykładowe pomiary powierzchni tkanki tłuszczowej i mięśniowej. Brakuje mi opisu zastosowanej metody półautomatycznego pomiaru tych pól, gdyż mogłaby być wykorzystywana do innych celów.

W recenzowanej pracy zostały także wykorzystane inne dane demograficzne, kliniczne, laboratoryjne, histopatologiczne pacjentów, takie jak BMI, AFP, morfologia krwi, punktacja MELD czy przyczyna marskości wątroby zgromadzone przez Katedrę i Klinikę Chirurgii Ogólnej, Transplantacyjnej i Wątroby WUM. Kandydatka zebrała także dane dotyczące ew. wznowy i czasu jej wystąpienia oraz czasu przeżycia i przyczyny ew. zgonów. Analiza statystyczna została przeprowadzona poprawnie. Przeżycia obliczono z użyciem

metody Kaplana-Meiera, porównano je stosując *log-rank test*; czynniki ryzyka nawrotu HCC i zgonu oceniono wykorzystując regresję proporcjonalnych zagrożeń Coxa, a punkty odcięcia w przewidywaniu wznowy i zgonu wyznaczono na podstawie krzywych ROC (pole pod krzywą (AUC) świadczy o dokładności/skuteczności wnioskowania o wystąpieniu nawrotu lub zgonu na podstawie danego parametru).

Uzyskane wyniki doktorantka zaprezentowała w piętnastu tabelach i na licznych rycinach (39). W moim odczuciu rycin jest zbyt dużo i wnoszą niewielki chaos. Redukcja ich liczby spowodowałaby lepszą czytelność pracy.

Doktorantka porównała dwie grupy pacjentów: z guzem incydentalnym i nieincydentalnym (tutaj za niepotrzebne uważam wstawienie tabeli nr 4 – ogólna charakterystyka chorych z guzem nieincydentalnym, gdyż większość informacji jest niepotrzebnie powielanych w tabeli nr 5 – porównanie ogólnej charakterystyki chorych z guzem incydentalnym i guzem nieincydentalnym), a w komentarzu do przeprowadzonej analizy nie skomentowała oczywistej różnicy w wielkości wykrytych ognisk – 30mm vs 11mm. Pojedynczy guz 11mm to według klasyfikacji BCLC postać bardzo wczesna (stadium 0) z lepszym rokowaniem niż postać wczesna (stadium A), warto byłoby ocenić, jak różniło się rokowanie chorych w stadium 0 i A.

Czterech chorych zmarło we wczesnym okresie po transplantacji z powodu powikłań. Osoby te należałoby wyłączyć z grupy analizowanej pod kątem wznowy HCC.

W analizie jednoczynnikowej jako czynniki nawrotu HCC po transplantacji w całej grupie wyróżniono: zwiększoną zawartość tkanki tłuszczowej podskórnej i całkowitej, wielkość ogniska HCC (powyżej 35mm) i mikroskopowe naciekanie naczyń oraz stężenie AFP>177ng/ml. Ponadto w grupie z guzem nieincydentalnym dodatkowo stwierdza się nieregularny zarys guza w obrazach TK. Nieregularny zarys guza jest silnie związany nie tylko z ryzykiem wznowy, ale także zgonu.

Zawartość tkanki tłuszczowej podskórnej i wewnątrzbrzusznej były ze sobą silnie skorelowane. Zdecydowanie słabszą korelację obserwowano pomiędzy wartością BMI i zawartością tkanki tłuszczowej. Bardziej czułym parametrem jest zawartość tkanki tłuszczowej niż BMI. Tkanka tłuszczowa podskórna i całkowita korelują z ryzykiem wznowy choroby zasadniczej. Są to bardzo ciekawe obserwacje, które idealnie wpisują się w aktualne trendy dotyczące zdrowego stylu życia i potencjalnego ryzyka wystąpienia zespołu metabolicznego. W wyniku przeprowadzonych analiz nie udało się wykazać wpływu ilości tkanki mięśniowej na wyniki przeszczepiania wątroby z powodu HCC. Nie uzyskano korelacji pomiędzy sarkopenią a ryzykiem wznowy ani zgonu, ale wyznaczony kierunek badań należałoby dalej kontynuować. Być może metodologia oceny mięśni jedynie na podstawie pomiaru pola powierzchni na wys. pojedynczego kręgu L3 w badaniu TK pozwala na zaobserwowanie zbyt małych różnic w masie mięśniowej pomiędzy poszczególnymi chorymi. Zachęcałabym doktorantkę, aby ulepszyła metodologię oceny masy mięśniowej i powtórzyła badanie nad wpływem sarkopenii na ryzyko wznowy i zgonu.

W „Dyskusji” Doktorantka wskazuje na niedoskonałości obecnie stosowanych kryteriów kwalifikacji do transplantacji, opierających się jedynie na liczbie i wielkości ognisk HCC oraz stopnia wydolności wątroby i stanu pacjenta. Przedstawiła nowe czynniki, takie jak całkowicie nieregularny zarys guza, które oprócz kryteriów dotychczas stosowanych są negatywnym czynnikiem rokowniczym, zarówno w kontekście nawrotów choroby, jak i pięcioletnich przeżyć. Analizowała także inne cechy guza jak obecność torebki czy jej niepełny zarys i związek tego obrazu z mikroskopowym naciekaniem naczyń. Brak wpływu tego czynnika w recenzowanym badaniu może wynikać ze stosunkowo nielicznej grupy spełniającej ten parametr.

Doktorantka podkreśla, że uboga jest literatura w kwestii oceny wpływu zwiększonej zawartości tkanki tłuszczowej całkowitej i podskórnej na ryzyko wznowy HCC po transplantacji. Pojedyncze doniesienia mówią tylko o takim ryzyku w przypadku resekcji wątroby, wykazując, że otyłość sarkopeniczna ma negatywny wpływ zarówno na przeżycia, jak i czas wolny od nawrotu choroby. Kandydatka umiejętnie prowadzi dyskusję konfrontując swoje wyniki z tymi pojedynczymi poruszającymi tę problematykę. Doskonale przedstawia teorię karcynogennej roli otyłości, po czym poddaje ją krytycznej analizie i opisuje jako kolejny możliwy mechanizm odpowiedzialny za wznowę HCC – wpływ leptyny.

Dyskusja nie jest przegadana, raczej dość zwięzła, stanowi mocny element pracy i świadczy o dojrzałości naukowej Kandydatki, która po raz kolejny wykazuje się bardzo dobrą znajomością nie tylko tematyki radiologicznej, ale także zagadnień klinicznych. Umiejętnie porządkuje poglądy dotyczące raka pierwotnego wątroby oraz ryzyka wznowy i zgonu po przeszczepie wątroby i wyprowadza następujące wnioski, odpowiadające na postawione cele:

1. Zwiększona ilość podskórnej tkanki tłuszczowej oraz zwiększona ilość całkowitej tkanki tłuszczowej podnoszą ryzyko nawrotu raka wątrobowokomórkowego po przeszczepieniu wątroby.
2. Ilość tkanki tłuszczowej wewnątrzbrzuszej, tkanki mięśni lędźwiowych większych ani całkowita ilość tkanki mięśniowej nie mają wpływu na ryzyko nawrotu w tej grupie chorych.
3. Całkowicie nieregularny zarys guza w przedoperacyjnym badaniu tomografii komputerowej zwiększa ryzyko zarówno nawrotu HCC po przeszczepieniu, jak i zgonu w 5-letnim okresie obserwacji.
4. Wpływ ilości tkanki mięśniowej na przeżycie tej grupy chorych wymaga dalszych badań; w przedstawionej pracy nie udało się go jednoznacznie ustalić.

Wnioski są poprawne i mają istotną wartość kliniczną i praktyczną. Nie do końca akceptuję sformułowanie „ilość tkanki”, co nie ma wpływu na wartość merytoryczną rozprawy.

Recenzowana rozprawa zawiera piśmiennictwo obejmujące 152 pozycje w większości aktualnej literatury anglojęzycznej. Są one odpowiednio dobrane i cytowane, a ponad 40% pozycji stanowi publikacje z ostatnich 5 lat.

Praca napisana jest poprawną polszczyzną, pojedyncze literówki nie obniżają jej walorów.

Mocne strony pracy:

1. Praca dotyczy unikatowego zagadnienia na polskim rynku medycznym i powstała dzięki aktywnej współpracy z doskonałą Katedrą i Kliniką Chirurgii Ogólnej, Transplantacyjnej i Wątroby WUM. Analizuje cechy morfologiczne raka wątrobowokomórkowego oraz wykładniki otyłości i sarkopenii w kontekście ich znaczenia rokowniczego u chorych z HCC po przeszczepie wątroby.
2. Doskonale porównuje obrazy wielofazowej tomografii komputerowej z badaniem histopatologicznym.
3. Przedstawia wysokie walory edukacyjne (zwłaszcza wstęp).
4. Stanowi oryginalne osiągnięcie badawcze i świadczy o dojrzałości naukowej doktorantki, a także jej zaangażowaniu w opracowywane zagadnienie.
5. Napisana jest w sposób przejrzysty, poprawną polszczyzną i starannie wykonana została analiza statystyczna

Oceniając pozytywnie, tak pod względem formalnym jak i merytorycznym rozprawę doktorską lek. Karoliny Grąt pt. „Znaczenie predykcyjne tomografii komputerowej w transplantacji wątroby z powodu raka wątrobowokomórkowego”, która spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016, poz. 882 z późn. zm.), zwracam się do Wysokiej Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o przyjęcie pracy i dopuszczenie jej autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk, 12.03.2019

Edyta Szurowska

