



Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji
Kierownik Kliniki: prof. dr hab. Sławomir A. Pancewicz
tel.: 85 7409-514, 85 7409-519, fax.: 85 7409515
e-mail: neuroin@umb.edu.pl

dr hab. n. med. Anna Moniuszko-Malinowska
Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Recenzja Rozprawy Doktorskiej lek. Katarzyny Klimowicz

pt. Wpływ terapii lekami o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym na wybrane parametry zapalenia i włóknienia wątroby u zakażonych HCV

Zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu C nadal jest poważnym problemem epidemiologicznym na całym świecie. Szacuje się, że zakażonych wirusem HCV jest ponad 71 milionów ludzi, w czym około 7 milionów w Europie. W Polsce zakażenie HCV występuje u około 150 tysięcy dorosłych. Mimo rewolucyjnego postępu w diagnostyce i leczeniu zakażeń HCV, który dokonał się na przestrzeni ostatnich lat, pozostają one poważnym problemem klinicznym. Rak pierwotny wątroby (*ang. hepatocellular carcinoma - HCC*) będący powikłaniem zakażenia HCV, wciąż stanowi drugą u mężczyzn i szóstą wśród kobiet przyczynę śmierci związanej z nowotworem na świecie. Skuteczne leczenie przeciwwirusowe zakażeń HCV jest niezwykle istotnym działaniem profilaktycznym HCC.

Nowoczesne leki o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym (*ang. direct-acting antiviral agents - DAA*) pozwalają na osiągnięcie trwałej odpowiedzi wirusologicznej u ponad 90% chorych. Niestety obserwacje ostatnich lat wykazały, że mimo eliminacji wirusa ryzyko rozwoju HCC w tej grupie chorych pozostaje podwyższone. Z tego powodu prowadzenie badań naukowych w tym zakresie jest niezwykle istotne i w pełni uzasadnia potrzebę badań prowadzonych przez Doktorantkę.

Przedstawiona rozprawa na stopień doktora ma układ typowy dla tego typu opracowań. W skład pracy przygotowanej przez Doktorantkę wchodzi następujące rozdziały: Spis rycin, Wykaz stosowanych skrótów, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wstęp, Cel, Pacjenci i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Piśmiennictwo.

We Wstępie Doktorantka w niezwykle skrupulatny i zrozumiały sposób przedstawia aktualny stan wiedzy na temat epidemiologii zakażeń HCV na świecie, nowoczesnych rozwiązań terapeutycznych, biochemicznych markerów włóknienia wątroby, biochemicznych markerów stresu oksydacyjnego i procesu zapalnego, wpływu zakażenia wirusem HCV na rozwój raka pierwotnego wątroby oraz znaczenie alfa-fetoproteiny u chorych z HCV i HCC. Wprowadzenie do tematyki pracy oparte jest na najnowszym piśmiennictwie.

Doktorantka stawia sobie za cel ocenę wpływu bezinterferonowej terapii przeciwwirusowej u chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C na wybrane parametry: włóknienia wątroby (stężenia MMP-9 i TGF- β 1, sztywność wątroby mierzona elastograficznie); zapalenia wątroby (ocena aktywności ALT, GGTP, stężenia hsCRP, glutationu); stężenie AFP oraz identyfikację chorych o podwyższonym ryzyku rozwoju HCC.

Cele są w pełni uzasadnione zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia.

W rozdziale „Pacjenci i metody” Doktorantka opisuje grupę badawczą, w skład której wchodzi 111 pacjentów zakażonych HCV leczonych terapią bezinterferonową. Warty podkreślenia jest dokładne wytłumaczenie przyczyn różnej liczebności chorych kwalifikowanych do poszczególnych oznaczeń oraz podanie informacji o pacjentach, którzy zostali wykluczeni z badania. Charakterystyka grupy badawczej została przedstawiona przejrzysto zarówno w tekście, jak i w Tabelach 2 i 3. Również metody zostały przedstawione klarownie. Stężenie AFP oznaczano metodą elektrochemiluminescencji, aktywność GGTP - metodą enzymatyczno-kolorymetryczną, stężenie glutationu, hsCRP, MMP-9 i TGF- β 1 – metodą immunoenzymatyczną. Sześćdziesiąt sześć osób miało wykonywaną biopsję wątroby z histopatologiczną oceną stopnia zaawansowania włóknienia w skali Metavir. U 105 osób w dniu rozpoczęcia leczenia oceniono stopień włóknienia wątroby metodą nieinwazyjną za pomocą FibroScanu. Badanie elastograficzne wykonano u 65 osób 24 tygodnie po zakończeniu leczenia. Dobór zastosowanych metod nie budzi wątpliwości.

Wyniki przedstawione zostały na 24 stronach z wykorzystaniem 16 rycin i 21 tabel. O dokładności analitycznej Doktorantki świadczy fakt poszukiwania różnych związków zachodzących między badanymi parametrami w całej grupie chorych oraz w poszczególnych grupach pacjentów. Analiza statystyczna wyników przed i po leczeniu przeciwwirusowym w zależności od aktywności ALT, GGTP, stężenia glutationu, AFP, zaawansowania włóknienia wątroby, wirerii uważam za niezwykle ciekawe. Pozwala to na dokładne przebadanie pacjentów będących na różnych etapach zaawansowania procesu chorobowego. Doktorantka wykazała, że eliminacja zakażenia HCV po leczeniu przeciwwirusowym DAA spowodowała istotne obniżenie aktywności GGTP w surowicy krwi. Po leczeniu przeciwwirusowym liczba płytek krwi w całej badanej grupie nie zmieniła się, natomiast w grupie chorych z małopłytkowością wzrosła. Chorzy z małopłytkowością

charakteryzowali się bardziej zaawansowanym włóknieniem wątroby, wyższą wyjściową aktywnością ALT i GGTP oraz stężeniem AFP, a po zakończeniu leczenia w tej grupie, na podstawie badania FibroScanem, wykazano większą redukcję włóknienia. Doktorantka wykazała, że pacjentów z wyższym stopniem włóknienia wątroby charakteryzowała wyższa wyjściowa aktywność ALT i GGTP, stężenie AFP, a niższe stężenie hsCRP i glutationu. Po leczeniu przeciwwirusowym nasilenie włóknienia wątroby zmniejszyło się. Większą redukcję włóknienia wątroby obserwowano u chorych, u których stężenie hsCRP i MMP-9 po leczeniu przeciwwirusowym zmniejszyło się, a TGF- β 1 wzrosło. Eliminacja zakażenia HCV po leczeniu DAA nie wpłynęła na zmianę stężenia glutationu, MMP-9, TGF- β 1 i hcCRP, natomiast stężenie AFP zmniejszyło się. Niemal u wszystkich pacjentów obserwowano obniżenie stężenia AFP po leczeniu przeciwwirusowym, niezależnie od jego wyjściowego poziomu, aktywności stanu zapalnego czy stopnia zaawansowania włóknienia wątroby. W grupie chorych z prawidłowym stężeniem AFP obserwowano wzrost stężenia glutationu po leczeniu przeciwwirusowym.

W Dyskusji Doktorantka konfrontuje wyniki przeprowadzonych badań z danymi z piśmiennictwa. W krytyczny sposób analizuje czynniki wpływające na rozbieżność uzyskanych wyników z wynikami innych autorów. Autorka wymienia również ograniczenia prowadzonych przez siebie badań i ich potencjalny wpływ na otrzymane wyniki. Forma prowadzonej dyskusji świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Na podstawie wyników swoich badań Doktorantka wyciąga następujące wnioski:

1. Leki o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym są skuteczne w eliminacji zakażenia HCV niezależnie od wyjściowego nasilenia procesu zapalnego i stopnia włóknienia wątroby.
2. Największą redukcję parametrów stanu zapalnego, stresu oksydacyjnego, włóknienia wątroby i stężenia AFP po leczeniu DAA osiągnęli chorzy o zaawansowanym włóknieniu wątroby.
3. FibroScan jest najbardziej przydatnym, nieinwazyjnym narzędziem do oceny regresji włóknienia wątroby. Predyktorem redukcji włóknienia po leczeniu DAA może być zmiana stężenia MMP-9 i TGF- β 1.
4. Pacjenci, u których po leczeniu DAA nie nastąpiła normalizacja stężenia AFP i aktywności GGTP są najprawdopodobniej chorymi wymagającymi dalszego, ścisłego monitorowania w zakresie rozwoju HCC.

Wnioski są poprawne i odpowiadają założonym celom pracy. Szczególnie cenny jest wniosek 4, który z pewnością można przełożyć na praktykę kliniczną. Poczynione obserwacje wskazują, iż terapia oparta na lekach DAA powoduje zmniejszenie nasilenia procesu zapalnego oraz cofanie się włóknienia wątroby, szczególnie w grupach pacjentów z bardziej zaawansowanym procesem

chorobowym. W przypadku braku normalizacji stężenia AFP i aktywności GGTP wskazany jest ścisły monitoring w zakresie rozwoju HCC.

Przedstawione piśmiennictwo składa się ze 168 pozycji, głównie zagranicznych. Jest aktualne i skrupulatnie przedstawione.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na drobne przeoczenia:

- brak spisu tabel
- brak informacji o zdrowej populacji, która była włączona do badania (str. 50). Czy Doktorantka ma na myśli normy laboratoryjne?

- drobne błędy edytorskie, np. w Tabeli 11 – CR, zamiast CRP
- proponowałabym zamieszczenie bardziej szczegółowego opisu zastosowanych metod statystycznych, zamieszczenie informacji o wartościach odchylenia standardowego w tabelach lub na rycinach oraz ujednolicenie p-value

- sugerowałabym przeformułowanie pierwszej części wniosku 3, gdyż celem badania nie była ocena przydatności użycia FibroScanu do oceny regresji włóknienia wątroby.

Poczynione uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej przedstawionej mi do recenzji pracy, którą uważam za bardzo dobrze zaplanowaną i wykonaną.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Katarzyny Klimowicz pt. „Wpływ terapii lekami o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym na wybrane parametry zapalenia i włóknienia wątroby u zakażonych HCV” stanowi rzetelne badanie naukowe o dużej wartości poznawczej i potencjalnym zastosowaniu klinicznym. Doktorantka udowodniła zdolność do prowadzenia badań naukowych oraz rozwiązywania trudnych problemów naukowych i klinicznych.

Rozprawa doktorska 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.). W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Katarzyny Klimowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

2 wyrażeni recenzji
le fibro- fibroline

dr hab. n. med. Anna Moniuszko-Malinowska
specjalista chorób wewnętrznych
specjalista chorób zakaźnych
medycyna tropikalna
116275

06.04.2018