



Krakowska Akademia

im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego

WYDZIAŁ LEKARSKI I NAUK O ZDROWIU

ul. G. Herlinga-Grudzińskiego 1, 30-705 Kraków

tel. (12) 252 45 05, (12) 252 45 20, fax: (12) 252 45 02

e-mail: wlnz@afm.edu.pl

Kraków, dn. 07.04.2019 r.

Szanowny Pan

Dr hab. n. med. Przemysław Kunert

Prodziekan

I Wydziału Lekarskiego

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

02-091 Warszawa

ul. Żwirki i Wigury 61

Szanowny Panie Dziekanie,

Zgodnie z pismem z dnia 06.03.2019 r. przesyłam w załączeniu trzy egzemplarze recenzji rozprawy doktorskiej lek. Katarzyny Klimowicz pt.: „ *Wpływ terapii lekami o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym na wybrane parametry zapalenia i włóknienia wątroby u zakażonych HCV* „ wraz z pozostałą dokumentacją.

Dziękuję za możliwość współpracy z tak znakomitą Uczelnią; gratuluję kolejnego osiągnięcia naukowego.

Z wyrazami szacunku i poważania

Prof. dr. hab. Anna Boroń-Kaczmarek
choroby zakaźne i wewnętrzne
568719

Prof. dr hab. n. med. Anna Boroń - Kaczmarek

Ocena

rozprawy doktorskiej lek med. Katarzyna 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 (HCV) należy do szczególnie ważnych problemów współczesnego zakaźnictwa głównie z uwagi na rozpowszechnienie infekcji w Polsce i na świecie, częste przewlekłe zakażenie skutkujące rozwojem przewlekłej choroby wątroby. Terminalną fazą przewlekłego zapalenia wątroby typu C jest marskość wątroby, na bazie której u około 10% chorych rozwinąć się może rak wątrobowokomórkowy.

Wspaniałym osiągnięciem ostatnich lat jest blisko 100% możliwość wyleczenia z zakażenia wirusem wykorzystując leki bezpośrednio hamujące aktywność replikacyjną HCV (ang. *Direct Acting Antivirals, DAAs*). Ten znakomity odsetek wyleczeń z infekcji wirusem dotyczy chorych głównie z przewlekłym zapaleniem; w fazie marskości wątroby jest nieco niższy sięga bowiem 90%.

Wiadomo także, bazując na obserwacjach klinicznych, że pomimo wyleczenia z zakażenia HCV choroba wątroby może postępować dalej zagrażając przemianą nowotworową włącznie. Aktualne rekomendacje europejskie i polskie sugerują dalszą obserwację chorych, zwłaszcza narażonych na reinfekcję względnie z zaawansowanym włóknieniem w wątrobie z ryzykiem rozwoju raka wątrobowokomórkowego (HCC), po wyleczeniu z zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C. Obserwacja tych chorych oraz odpowiednie badania biochemiczne, molekularne czy obrazowe powinny być kontynuowane w jednostce specjalistycznej. W tym miejscu należy podkreślić, że wczesne wykrycie HCC ma szczególne znaczenie umożliwia bowiem skuteczne leczenie tej choroby nowotworowej.

Dlatego też nadal intensywnie rozwijane są badania mające na celu wypracowanie takich parametrów, które umożliwią ocenę ewentualnego zagrożenia postępu zmian chorobowych do marskości względnie przemiany nowotworowej u chorych po skutecznym leczeniu DAAs. Wskaźniki te powinny spełniać kryteria czułości, swoistości i łatwości przeprowadzenia analizy i pozwalać na ocenę nie tylko włóknienia ale i nasilenia zmian zapalnych w tkance wątrobowej.

Podjęcie badań nad przydatnością wybranych wykładników włóknienia, aktywności zapalnej w wątrobie i stężenia jednego z markerów nowotworzenia, tj. alfa-feto-proteiny (AFP) stały się podstawą do przeprowadzenia badań zebranych w omawianej rozprawie doktorskiej.

Rozprawa doktorska Doktorantki liczy 86 stron i redakcyjnie została opracowana w formie typowej.

Część wstępna z wydzielonymi podrozdziałami liczy 30 stron i zakończona jest przedstawieniem założeń i celu pracy. Fragment „ pacjenci i metody „ zebrany został na 4 stronach;

wyniki - na 23; dyskusja – na 21 stronach. Całość ilustrują starannie opracowane Tabele i Ryciny w liczbie odpowiednio – 24 i 22. Opracowując rozprawę, Doktorantka wykorzystala 168 pozycji głównie anglojęzycznych z ostatnich 5 lat. Umieszczony we części wstępnej wykaz skrótów bardzo ułatwia śledzenie znaczenia poszczególnych sformułowań.

Wstęp, to szczegółowe i staranne opracowanie ujmujące najnowsze informacje dotyczące epidemiologii zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu C w Polsce i na świecie, aktualnych możliwości leczenia przeciwwirusowego oraz szeregu aspektów patogenetycznych jak analiza biochemicznych markerów włóknienia, stresu oksydacyjnego i zapalenia. Tą starannie i nowocześnie napisaną część wstępną rozprawy kończą dwa akapity poświęcone rakowi wątrobowokomórkowemu z uwzględnieniem przewlekłego zakażenia jako jednego z czynników nowotworzenia oraz alfa-fetoproteinie (AFP) jako jednemu z markerów nowotworowych.

Całość wstępu kończy przedstawienie założeń badawczych i celu pracy.

Zaplanowane badania dotyczą bowiem oceny wpływu terapii bezinterferonowej przewlekłego zapalenia wątroby typu C na wybrane parametry włóknienia wątroby (MMP-9 i TGF- β 1), zapalenia wątroby (aktywność ALT, GGTP oraz stężenie hsCRP i glutationu) oraz poziom AFP we krwi obwodowej.

Badania przeprowadzono u 111 dorosłych chorych zakażonych HCV, którzy w latach 2015-2016 leczeni byli przeciwwirusowo terapią bezinterferonową w Klinice Chorób Zakaźnych, Tropikalnych i Hepatologii WUM oraz w Oddziale Chorób Wewnętrznych i Hepatologii CSK MSWiA w Warszawie. W grupie tej dominowali mężczyźni (62 chorych). Dokładna charakterystyka badanej grupy chorych pozwala na spostrzeżenie, że byli to ludzie stosunkowo młodzi, szczupli; wśród których przeważali pacjenci z przewlekłym zapaleniem wątroby. 53 chorych leczonych było po raz pierwszy; pozostali – leczeni byli w poprzednich latach co najmniej jeden raz, niestety nieskutecznie.

W dniu rozpoczęcia i zakończenia leczenia oznaczano u pacjentów liczbę płytek krwi, aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT), gammaglutamylotransapeptydazy (GGTP), stężenie alfa-fetoproteiny (AFP), włóknienie wątroby mierzone elastrograficznie za pomocą FibroScanu. U wybranych chorych w dniu rozpoczęcia i zakończenia leczenia oznaczano stężenie TGF- β 1, MMP-9, hsCRP i glutationu. Ponadto 65 chorych 24 tygodnie po zakończeniu leczenia miało wykonany FibroScan.

Uzyskane wyniki badań poddane były dokładnej analizie statystycznej z wykorzystaniem testów weryfikacji hipotez statystycznych, tj. testu t-Studenta, testu Welcha, testu Wilcoxa i korelacji Pearsona. Wartość $p < 0,05$ ustalono jako poziom istotności statystycznej. Do obliczeń statystycznych użyto programu Microsoft Excel oraz programu R.

Uzyskane wyniki badań wniosły szereg interesujących informacji. Wszyscy chorzy zostali wyleczeni z zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C. Intrygujące spostrzeżenia dotyczyły

aktywności gamma-glutamylotransferazy (GGTP); u chorych z zaawansowanym włóknieniem wątroby wykazano istotnie wyższą aktywność GGTP, zarówno przed leczeniem (p value < 0,008) jak i na zakończenie terapii (p value < 0,014). Starszy wiek, wyższy indeks masy ciała (BMI) wyższa aktywność ALT oraz większe stężenie AFP – te cechy stwierdzono u chorych z wyższą aktywnością GGTP.

Z klinicznego punktu widzenia analiza stężenia AFP jako markeru nowotworowego stanowi cenne uzupełnienie przeprowadzonych badań własnych. Kandydatka wykazała istotne obniżenie stężenia AFP po leczeniu przeciwwirusowym. W momencie rozpoczęcia leczenia wyższe stężenia AFP stwierdzono u chorych z wyższą aktywnością ALT, GGTP, z niższym stężeniem glutationu, wyraźnie wyższą wyjściową sztywnością wątroby – 20,18 versus 8,53 kPa oraz z niższą liczbą płytek krwi.

Niemal u wszystkich pacjentów odnotowano redukcję stężenia AFP po leczeniu DAAs, niezależnie od jego wyjściowego poziomu, aktywności stanu zapalnego czy stopnia zaawansowania włóknienia wątroby. W grupie chorych o prawidłowym stężeniu AFP obserwowano wyraźny wzrost stężenia glutationu po leczeniu przeciwwirusowym.

Cześć dyskusyjna rozprawy to ostrożna i przemyślana polemika Kandydatki operującej najnowszą wiedzą i własnymi doświadczeniami wynikającymi z przeprowadzonych badań ze spostrzeżeniami innych autorów. W tej pisemnej polemice przyświecał Doktorantce jeden główny cel tj. przydatność przeprowadzonych badań własnych do wyodrębnienia grupy chorych, którzy będą wymagali szczególnego nadzoru onkologicznego z uwagi na ryzyko rozwoju HCC. Szczególnie interesującym biochemicznym wykładnikiem jest GGTP - enzym, którego aktywność koreluje z włóknieniem w wątrobie i aktywnością ALT. Normalizacja względnie tendencja normalizacyjna GGTP była wyraźniejsza u badanych chorych z wyższą wiramią HCV. To spostrzeżenie analizowane w części dyskusyjnej rozprawy i odnoszone do spostrzeżeń innych autorów może przemawiać za tym, że enzym ten jest markerem aktywności choroby a nie tylko wykładnikiem nasilenia zmian chorobowych w wątrobie. To przemyślana i bardzo dobrze napisana część rozprawy doktorskiej.

Rozprawę bilansują cztery wnioski ściśle odpowiadające założeniom badawczym rozprawy i uzyskanymi wynikami przeprowadzonych badań własnych.

Rozprawa zarówno w formie jak i treści nie budzi istotnych zastrzeżeń. Jednak brak wykazu Tabel w treści opracowania nieco utrudnia śledzenie uzyskanych wyników badań własnych. Koniecznym jest przedstawienie zgody Komisji Bioetycznej – informacja o tym dokumencie znajduje się w spisie treści ale brakuje odpowiedniego pisma w opracowaniu.

Podsumowując, omawiana rozprawa doktorska stanowi zwarte, starannie przemyślane i konsekwentnie zrealizowane studium, którego najważniejszymi walorami jest oceny wpływu terapii

bezinterferownowej przewlekłego zapalenia wątroby typu C na wybrane parametry włóknienia wątroby, zapalenia wątroby oraz poziom AFP we krwi do ewentualnego wykorzystania w ocenie pacjentów z ryzykiem onkologicznym pomimo eliminacji wirusa.

Przejrzyste Tabele i Ryciny ułatwiają śledzenie toku badań; w opracowaniu redakcyjnym uwzględniono bogate anglojęzyczne piśmiennictwo w ostatnich dziesięciu lat.

Całość opracowania napisana jest przejrzystym polskim językiem.

Przedstawiona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.

Wniosek końcowy.

Przedstawiona powyżej opinia upoważnia mnie do przedłożenia Wysokiej Radzie I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie wniosku o dopuszczenie lek. Katarzyny Klimowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

7 5 6 8 7 1 9
choroby zakaźne i wewnętrzne
Prof. dr hab. Anna Boroń-Kaczmarska

Prof. dr hab. n. med. Anna Boroń- Kaczmarska