

Akceptuję
H. O. W.

Opinia

dotycząca rozprawy doktorskiej mgr Macieja Piotra Janiaka pt.: "Identyfikacja prognostycznych markerów warunkujących przebieg ostrego zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) ,,"

Odkryty w końcu lat 80-tych XX wieku wirus zapalenia wątroby typu C (HCV) stanowi nadal ważny problem zdrowia publicznego i aktualnie jest najczęstszym czynnikiem chorobotwórczym odpowiedzialnym za rozwój marskości wątroby. Zgodnie z danymi CDC, obecnie 185 mln. ludzi jest zakażonych tym drobnoustrojem.

O ile prowadzone nadal analizy epidemiologiczne i obserwacje praktyczne wniosły szereg niepodważalnych informacji na temat częstości zakażeń w różnych regionach świata, transmisji oraz obrazu klinicznego przewlekłej choroby wątroby, to rzeczywistość kliniczna okazała się być znacznie bardziej skomplikowana. W tym miejscu należy wymienić, przede wszystkim, skąpoobjawowość lub brak objawów klinicznych każdej fazy zakażenia HCV utrudniający postawienie ostatecznego rozpoznania i tym samym - podjęcie specjalistycznych działań zapobiegających rozwojowi marskości wątroby. Niezwykle ważne w prognozowaniu przebiegu przewlekłego zakażenia tym wirusem jest zagrożenie rozwojem raka wątrobowokomórkowego w fazie nieodwracalnych zmian chorobowych w wątrobie.

To częste w populacji ludzi zakażenie, zgodnie z programem WHO, powinno być ograniczane poprzez wczesne rozpoznanie choroby wątroby spowodowanej zakażeniem HCV i skuteczne leczenie lekami hamującymi cykl życiowy wirusa.

W licznych opublikowanych badaniach potwierdzono także inną sytuację kliniczną, tj. przebieg zakażenia z samoeliminacją wirusa; są to pacjenci z obecnymi przeciwciałami anti-HCV ale bez wykrywanego materiału genetycznego wirusa we krwi obwodowej.

Dzisiejsze statystyki mówiące o częstości przewlekłej choroby wątroby spowodowanej przez HCV wahają się od 45 do 70% zakażonych. Warto też dodać, że po skutecznym leczeniu przeciwwirusowym przeciwciała anti-HCV utrzymują się przez wiele lat.

Pozwolę sobie przypomnieć, że infekcja HCV nie zawsze ma charakter objawowy; najczęściej rozpoznawane jest przewlekłe zapalenie wątroby typu C, które nie leczone może prowadzić do rozwoju marskości wątroby z zagrożeniem rozwoju raka wątrobowokomórkowego. Należy podkreślić, że we wczesnej fazie zakażenia (pierwszych kilka tygodni) przy braku symptomów klinicznych choroby, jedyną możliwość rozpoznania infekcji HCV stanowi wykrycie materiału genetycznego wirusa we krwi obwodowej.

Powstała luka w badaniach nad patomechanizmem infekcji wirusem C dotyczy fazy pomiędzy ostrym wirusowym zapaleniem wątroby spowodowanym zakażeniem HCV, często bezobjawowym, a przejściem tego stadium w proces przewlekły. Czynniki, które miałyby znaczenie w rozwoju przewlekłego zakażenia u chorych z ostrym wirusowym zapaleniem wątroby typu C są badane tylko i wyłącznie u pacjentów z potwierdzoną fazą ostrą. Opublikowane dane dotyczące wykładników

determinujących rozwój przewlekłego procesu chorobowego u zakażonych HCV dotyczą głównie pacjentów z wykrytymi swoistymi przeciwciałami anty-HCV.

Pogłębienie wiedzy w tym właśnie zakresie możliwe jest tylko w sytuacji, kiedy badacz przeprowadza analizy u chorych bezobjawowych, ale z obecnym materiałem genetycznym wirusa we krwi obwodowej jeszcze przed fazą detekcji przeciwciał anty-HCV. Takie analizy możliwe są do przeprowadzenia tylko wśród osób zdrowych, którzy są systematycznie badani z różnych powodów w kierunku zakażenia HCV, każdorazowo z wykorzystaniem technik biologii molekularnej, np. dawcy tkanek lub narządów czy dawcy krwi.

Takie właśnie unikatowe badania przeprowadził mgr Maciej Piotr Janiak i zbilansował je w omawianej rozprawie doktorskiej.

Rozprawa doktorska licząca 87 stron została napisana w klasycznej formie redakcyjnej z wydzieleniem poszczególnych rozdziałów i podrozdziałów takich jak wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki własnych badań, dyskusja i wnioski. Każdy z rozdziałów został starannie opracowany i przedstawiony przez Doktoranta. Wyniki badań zebrano na przejrzystych Tabelach i Rycinach w liczbie kolejno 4 i 22. Przygotowując rozprawę doktorską, Doktorant wykorzystał 181 pozycji starannie dobranej literatury medycznej pochodzącej z ostatnich lat.

Wstęp – to obszerny fragment opracowania, w którym Doktorant przedstawił epidemiologię i patogenezę zakażenia HCV a także znane czynniki wpływające na samoistną eliminację wirusa. Znakomitym zwieńczeniem tej części doktoratu jest opis zastosowanych najnowocześniejszych technik badawczych bazujących na metodach biologii molekularnej wykorzystanych w badaniach własnych. Świetny rozdział uzasadniający założenia i cel pracy, które dotyczyły oceny wpływu czynników zależnych od wirusa lub od zakażonego pacjenta na samoistną eliminację wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV).

Badania własne przeprowadził mgr Janiak w grupie 124 dawców krwi, u których potwierdzono obecność HCV-RNA we krwi obwodowej. U żadnego pacjenta nie wykazano zakażenia innymi wirusami mogącymi uszkadzać wątrobę.

Końcowa analiza szeregu danych zarówno klinicznych jak i tych badanych parametrów została przeprowadzona u 40 osób.

Wśród badanych czynników wirusologicznych mogących mieć znaczenie w eliminacji zakażenia oceniano ilościowo wirus HCV, jego genotyp, zmienność genetyczną (liczba wariantów HCV, różnorodność populacji wirusa, liczbę podstawień nukleotydowych w stosunku do sekwencji konsensusowej. Analizowane czynniki zależne od zakażonego osobnika to polimorfizm rs12979860, wartości biochemicznych wykładników uszkodzenia mięszu wątroby oraz parametry immunologiczne, tj. stężenia wybranych chemokin głównie prozapalnych takich, jak eotaxin, IL-1 beta, IL-1 RA, IL-4 i kolejno IL- 5,7,10, IL-12p70, IP-10, MIP-1 alfa, PDGF-BB, TNF-alfa, VEGF-A, G-CSF, IFN-gamma.

Uzyskane wyniki badań poddane zostały szczegółowej analizie statystycznej z wykorzystaniem różnych testów; istotność statystyczną określano przy poziomie ufności $p < 0,05$.

Spośród 40 osób ujętych w analizie końcowej, u 19 wykazano samoistną eliminację wirusa, natomiast u 21 rozwinęło się przewlekłe zakażenie. Bardzo interesujące są wyniki badań własnych. Dokumentują bowiem decydujący udział pierwotnej odpowiedzi immunologicznej w eliminacji HCV, tj. działanie odpowiedzi wrodzonej uruchamianej w ciągu kilku dni po kontakcie z antygenem/antygenami wirusa. Za takim stwierdzeniem przemawiają istotnie wyższe stężenia markerów odpowiedzi immunologicznej takich jak IFN-gamma, TNF-alfa, IL-1 oraz IL-1RA we krwi obwodowej stwierdzone u chorych z samoeliminacją wirusa zapalenia wątroby typu C w porównaniu z chorym, u których zjawisko samoeliminacji wirusa nie miało miejsca.

Czynniki wirusologiczne, w świetle przeprowadzonych badań, takie jak wiremia HCV, genotyp czy parametry zmienności genetycznej oceniane na podstawie HVR1 nie wydają się mieć znaczenie w samoistnej eliminacji zakażenia.

Nie mam żadnych istotnych uwag co do prezentowanej rozprawy doktorskiej; wręcz przeciwnie uważam ten projekt za bardzo ważny, albowiem uzyskane wyniki dokumentują istotny element patomechanizmu zakażenia HCV, tj. znaczenie wrodzonej odpowiedzi immunologicznej w spontanicznej eliminacji wirusa zapalenia wątroby typu C. Znaczenie praktyczne przeprowadzonych analiz, to przede wszystkim zwiększenie możliwości prognozowania zejścia ostrego wirusowego zapalenia wątroby.

Jednakowoż mam zapytanie do Doktoranta, dlaczego w analizach nie uwzględnił wszystkich 124 osób, u których wykazał wczesną fazę zakażenia HCV jeszcze przed pojawieniem się swoistych przeciwciał. Czytając rozprawę prawdopodobnie przeoczyłam informację na ten temat i dlatego proszę o informacje.

Podsumowując, omawiana rozprawa doktorska mgr Macieja Piotra Janiaka to zwarte, starannie przemyślane i niezwykle konsekwentnie zrealizowane studium mające charakter głównie poznawczy, ale i praktyczny. Najważniejszymi walorami tej pracy jest dobór grupy badanej; klinicznie zdrowych krwiodawców, u których we krwi stwierdzono obecność materiału genetycznego wirusa typu C jeszcze przed wykryciem swoistych przeciwciał anti-HCV. Zakres analizowanych parametrów zarówno wirusowych jak i immunologicznych, tych zależnych od organizmu człowieka - imponujący. Podobnie, metody badawcze należą do najnowszych metodologicznie i bardzo czułych. Wykazanie decydującej roli wrodzonych struktur układu immunologicznego człowieka w samoeliminacji HCV być może pozwoli w przyszłości na wypracowanie metod zapobiegających przewlekłemu aktywnemu zakażeniu.

Rozprawa niewątpliwie zasługuje na wyróżnienie i taki wniosek pozwalam sobie przedstawić.

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.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.).

Wniosek końcowy.

Przedstawiona powyżej opinia upoważnia mnie do przedłożenia Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie wniosku o dopuszczenie mgr Macieja Piotra Janiaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Kraków 23.11.2022 r.

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