UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

dr hab. n. med. Michał Kukla, prof. UJ
Klinika Chorób Wewnętrznych i Geriatrii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
Zakład Endoskopii
Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Kraków 10.03.2022

Recenzja

rozprawy doktorskiej lekarz Dagmary Bogdanowskiej-Charkiewicz pt.: „***Minimalna encefalopatia wątrobowa u chorych z pierwotnym zapaleniem dróg żółciowych***".

Pierwotne zapalenie dróg żółciowych (ang. *primary biliary cholangitis*, PBC) jest przewlekłą, postępującą, cholestatyczną chorobą wątroby występującą u osób z predyspozycją do wystąpienia chorób autoimmunologicznych. W przebiegu PBC dochodzi do procesu zapalno-destrukcyjnego wewnątrzwątrobowych przewodów żółciowych małego i średniego kalibru. W efekcie prowadzi to do przewlekłej cholestazy, postępującego włóknienia, a następnie do marskości i niewydolności wątroby.

Zaawansowane włóknienie i marskość wątroby związane są z rozwojem szeregu powikłań. Jednym z najpoważniejszych z nich jest encefalopatia wątrobowa (*hepatic encephalopathy,* HE). Niestety, u części pacjentów HE ma przebieg subkliniczny i pozostaje nierozpoznana, aż do czasu rozwoju postaci jawnej klinicznie, która może świadczyć o znacznie bardziej zaawansowanej chorobie wątroby. Subkliniczną postać HE określamy jako minimalną HE (*minimal hepatic encephalopathy,* MHE). Może ona dotyczyć nawet około 50% pacjentów z marskością wątroby. MHE można zdefiniować, jako obecność mierzalnych zaburzeń poznawczych u pacjentów z chorobą wątroby i/lub połączeniem wrotno-systemowym, które nie są zidentyfikowane na podstawie szczegółowego wywiadu klinicznego i pełnego badania neurologicznego, w tym wywiadu z bliskimi członkami rodziny, ale są wykrywane na podstawie nieprawidłowości w badaniu neuropsychometrycznym lub neurofizjologicznym, które można wykonać przy łóżku pacjenta i w warunkach ambulatoryjnych, przy braku innych znanych przyczyn nieprawidłowych testów poznawczych. Obserwowane są zaburzenia szybkości reakcji, percepcji wzrokowej, koncentracji związanej zwłaszcza ze skupianiem uwagi na jednej czynności oraz zdolności do wykonywania złożonych procedur, takich jak np.

kierowanie pojazdem. Duży problem stanowi również sfera emocjonalna, adaptacja społeczna oraz wpływ na jakość życia pacjentów. Co ważne, MHE predysponuje do rozwoju klinicznie jawnej encefalopatii wątrobowej. Ponadto rozpoznanie MHE, ma wpływ na zdolność do pracy i aktywność zawodową pacjentów, co może przekładać się na ich status społeczno-ekonomiczny. Rozpoznanie MHE pomaga wyselekcjonować grupę chorych narażonych na powikłania, a określenie czynników ryzyka, stwarza możliwość ich modyfikacji. Wczesna diagnostyka MHE ma duże znaczenie kliniczne, może wspierać zapobieganie jawnej encefalopatii wątrobowej. Co więcej chorzy z MHE, mają nie tylko wyższe ryzyko rozwoju OHE, ale są także częściej hospitalizowani oraz wykazują wyższy wskaźnik śmiertelności w ciągu dalszej obserwacji. Określenie prostych, skutecznych, powszechnie dostępnych i wiarygodnych metod diagnostycznych stwarzałoby możliwość szerszej diagnostyki i rozpoznawania MHE.

Istnieje wiele zidentyfikowanych czynników predysponujących do pojawienia się MHE. Do powszechnie znanych czynników ryzyka zalicza się: płeć męską, obecność żylaków przełyku, wiek ≥55 lat, słaby poziom edukacji <9 lat, punktację w skali Child-Pugh ≥7 (grupa B/C) oraz punktację w skali MELD (*model for end-stage liver disease*) ≥15. U pacjentów z marskością wątroby często dochodzi do dysbiozy, prowadzącej do rozrostu przerostu bakteryjnego jelita cienkiego (*small intestinal bacterial overgrowth,* SIBO). Dysbioza nasila się wraz z narastaniem stopnia niewydolności wątroby. W rezultacie, SIBO bierze udział jako istotny czynnik ryzyka w patogenezie zarówno spontanicznego bakteryjnego zapalenia otrzewnej jak i HE. Mimo upływu czasu, nie udało się wypracować uniwersalnych metod diagnostycznych MHE i nie ma pełnego konsensusu w sprawie jej rozpoznawania. Niezbędne jest spełnienie podstawowych kryteriów wynikających z definicji. Podejrzenie można wysunąć wśród osób z marskością wątroby, przewlekłymi chorobami wątroby, obecnością połączeń wrotno-systemowych, przy braku jawnych objawów chorobowych, odchyleń od normy stanu psychicznego; po wykluczeniu innych chorób organicznych mózgu lub stanów wpływających na funkcje poznawcze oraz nieprawidłowości w badaniach neurofizjologicznych i neuropsychologicznych. Spełnienie tych kryteriów może nasuwać na myśl rozpoznanie MHE. Tradycyjnie można wyróżnić trzy grupy badań dodatkowych służących do diagnostyki MHE. Najwcześniej stosowane były testy psychometryczne, druga

grupa to badania neurofizjologiczne, a trzecią stanowią badania neuroobrazowe. Do badań tych należą analizowane w przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej, zbiór 5 testów typu papier-ołówek (*The Psychometric Hepatic Encephalopathy Score*, PHES), test krytycznej częstotliwości migotania światła (*The Critical Flicker Frequency*, CFF), komputerowy test hamowania neuronalnego (*The Inhibitory Control Test,* ICT). Dotychczas nie zidentyfikowano markera biochemicznego, który w łatwy sposób mógłby służyć do rozpoznania MHE.

Oszacowanie częstości występowania MHE, określenie wyjściowych czynników ryzyka, ocena i porównanie przydatności poszczególnych metod diagnostycznych, ocena przydatności nowych markerów biochemicznych w diagnostyce i rokowaniu, a szczególnie ocena wpływu MHE na ryzyko wystąpienia powikłań i śmiertelność u pacjentów z przewlekłymi chorobami wątroby, w tym PBC ma ogromne znaczenie w praktyce klinicznej, w celu podjęcia szybkiego i skutecznego leczenia.

Przedstawiona do recenzji rozprawa ma formę opracowania komputerowego w twardej oprawie i liczy 37 numerowanych stron. Dodatkowo, dalej na nienumerowanych stronach znajdują się kopie artykułów włączonych i będących podstawą do rozprawy doktorskiej, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz informacja o charakterze udziału współautorów w pracy oryginalnej, będącej podstawą ocenianej dysertacji. Rozprawa oparta jest na dwóch pracach – pracy oryginalnej pt. "*Minimal hepatic encephalopathy may be present despite the absence of non-invasive and elastography evidence of cirrhosis in patients with primary biliary cholangitis*" i pracy poglądowej pt. „*Minimal hepatic encephalopathy – underestimated complication of chronic liver disease*". W obu pracach Doktorantka jest pierwszym autorem.

Rozprawa składa się z 10 rozdziałów poprzedzonych spisem treści. **Rozdział 1** obejmuje wykaz publikacji stanowiących podstawę analizowane dysertacji. **Rozdział 2** to wykaz skrótów, a **rozdział 3** to spis 8 tabel i 2 rycin.

We ***„Wstępie"***, który stanowi **Rozdział 4** monografii, Autorka wprowadza czytelnika w problematykę będącą przedmiotem dysertacji. Rozdział ten podzielony jest na dwie części – pierwsza dotyczy encefalopatii wątrobowej i druga, PBC. W części dotyczącej encefalopatii wątrobowej w formie podrozdziałów Autorka omawia patofizjologię, czynniki epidemiologiczne, klasyfikację i kryteria rozpoznawania encefalopatii, czynniki ryzyka rozwoju i znaczenie kliniczne MHE, metody służące do rozpoznawania oraz metody

profilaktyki i leczenia encefalopatii wątrobowej. W części dotyczącej PBC Autorka omawia kolejno aspekty patogenezy, diagnostyki i leczenia PBC. Wstęp ten zbiera syntetycznie niezbędne informacje, które zdecydowanie ułatwiają zrozumienie i analizę dalszej części rozprawy doktorskiej.

W **Rozdziale 5 „*Omówienie prac składających się na rozprawę doktorską*"** doktorantka omawia pracę oryginalną „*Minimal hepatic encephalopathy may be present despite the absence of non-invasive and elastography evidence of cirrhosis in patients with primary biliary cholangitis*". Kolejno przedstawia szczegółowe cele, materiał i metody, wyniki oraz wnioski.

Głównym celem pracy była ocena częstości występowania minimalnej encefalopatii wątrobowej u pacjentów z PBC. Celem drugorzędowym była analiza potencjalnych korelacji pomiędzy MHE a zaburzeniami krzepnięcia badanymi przy użyciu tromboelastometrii, nasileniem niewydolności wątroby i stopniem włóknienia wątroby ocenionym przy użyciu nieinwazyjnych markerów włóknienia oraz w elastografii. Cele szczegółowe przedstawiają się następująco:

1. Ocena częstości występowania encefalopatii wątrobowej, z uwzględnieniem MHE, u chorych z PBC.
2. Ocena zdolności poznawczych w testach psychometrycznych u chorych z PBC.
3. Ocena związku pomiędzy występowaniem MHE, a podstawowymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi u chorych z PBC.
4. Ocena częstości występowania encefalopatii wątrobowej, z uwzględnieniem MHE, u chorych z PBC w zależności od stopnia nasilenia włóknienia wątroby ocenianego metodą elastografii oraz przy użyciu nieinwazyjnych markerów włóknienia.
5. Ocena związku pomiędzy występowaniem poszczególnych składowych encefalopatii wątrobowej i stopniem jej nasilenia, a zaburzeniami układu krzepnięcia z uwzględnieniem wybranych parametrów uzyskanych w tromboelastometrii.

Cele te są jasno sformułowane, pod kątem ewentualnego wykorzystania uzyskanych wyników praktyce klinicznej.

Następnie, w podrozdziale **„*Materiał i metody*"** Autorka zamieszcza charakterystykę badanej populacji, opisuje szczegółowo kryteria włączenia i wyłączenia, metody nieinwazyjnej oceny

włóknienia wątroby zastosowane u badanych pacjentów oraz metody statystyczne użyte do analizy uzyskanych wyników.

W następnym podrozdziale ***„Wyniki"*** Autorka prezentuje uzyskane wyniki badań.

Minimalną encefalopatię wątrobową zdiagnozowano przy pomocy testów psychologicznych u 9 z 37 pacjentów z PBC, co stanowiło 24,3% grupy badanej. U żadnego z uczestników badania nie stwierdzono jawnych cech encefalopatii. Czterech (44,4%) spośród nich nie miało ani zaawansowanego włóknienia ani marskości wg ElastPQ, Fib-4 i APRI. Co więcej, u tych 4 pacjentów nie stwierdzono żadnych objawów marskości wątroby. Wyniki APRI i ElastPQ wskazywały na marskość wątroby u pozostałych 5 pacjentów.

W przypadku testów psychometrycznych służących do oceny zdolności poznawczych nie stwierdzono istotnej różnicy w wynikach MMSE pomiędzy grupami. U żadnej z osób w grupie kontrolnej nie wykazano MHE. Natomiast wyniki testów PSE (NCT-A, NCT-B, DST, SDT, LTT) użytych celem zdiagnozowania dysfunkcji poznawczych, jak i całkowity wynik PSE, różniły się istotnie pomiędzy grupami. Dalsza analiza wykazała, że wyniki tych testów różniły się nie tylko między grupą kontrolną a pacjentami z PBC i MHE, ale także pomiędzy pacjentami z PBC i MHE a grupą chorych z PBC bez MHE. Różnice te były zdecydowanie mniej wyraźne w przypadku porównania pacjentów z PBC bez MHE i grupy kontrolnej.

Analiza wykazała, że wzrost MELD o jeden punkt powodował wzrost ryzyka MEW o 52%.

Należy dodać, że wyniki zostały opisane w sposób zwięzły i dokładny, a jednocześnie przejrzysty i wyczerpujący. Opis wyników został uzupełniony przez niezbędne tabele i wykresy, co bardzo ułatwia interpretację uzyskanych w ocenianej rozprawie wyników.

Na podstawie uzyskanych wyników Autorka formułuje następujące wnioski, które prezentuje w kolejnym podrozdziale „***Wnioski***". Brzmią one następująco:

1. MHE może występować w PBC pomimo braku zaawansowanego włóknienia wątroby lub marskości wątroby.
2. Testy psychologiczne PHES znajdują zastosowanie w diagnostyce MHE u pacjentów z PBC.
3. Nie stwierdzono zależności pomiędzy obecnością MHE a wynikami podstawowych badań laboratoryjnych.

4. Nieinwazyjne markery włóknienia wątroby oraz wyniki elastografii nie różnicowały pacjentów z MHE od pozostałych uczestników badania.
5. Nieznacznie podwyższony wynik w skali MELD może wskazywać na większe ryzyko MHE u pacjentów z PBC, dzięki czemu mógłby stanowić potencjalny test przesiewowy w diagnostyce MHE, lecz wymaga to przeprowadzenia dalszych badań.

Wnioski 1-4 odpowiadają na postawione w kolejnych celach pytania.

Rozdział 6 *„Bibliografia"*, obejmuje 50 poprawnie, tematycznie dobranych pozycji literaturowych.

Rozdział 7 *„Publikacje stanowiące rozprawę doktorską"* stanowią kopie obu opisanych powyżej artykułów – oryginalnego i poglądowego, na podstawie których oparta jest oceniana rozprawa doktorska.

Dysertacja zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim, które stanowią odpowiednio **rozdział 8 i 9.**

Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem ich wkładu procentowego zawarta jest w **rozdziale 10.**

Pomimo ciekawego i ambitnego celu badawczego, jaki Autorka postawiła sobie w rozprawie doktorskiej, dużego znaczenia praktycznego pracy i poprawności językowej z obowiązku recenzenta pozwolę sobie na kilka uwag dotyczących dysertacji.

Uwagi merytoryczne

1. Autorka w swojej rozprawie doktorskiej nie przeanalizowała ograniczeń, które mogły mieć wpływ na uzyskane wyniki. Należą do nich m. in. stosunkowo mała grupa badanych pacjentów i brak biopsji wątroby, która nie jest konieczna w diagnostyce PBC, ale jest „złotym standardem" w ocenie zaawansowania włóknienia. Oba te ograniczenia zostały przedstawione jedynie w tekście pracy oryginalnej. Poza tym brak informacji na temat leków (poza ujętymi w kryteriach wykluczenia) stosowanych z powodu innych chorób, które mogą mieć wpływ na funkcje wątroby i układu nerwowego, brak określenia występowania cech nadciśnienia wrotnego, np. w badaniu endoskopowym, którego nasilenie ma ścisły związek z występowaniem encefalopatii, brak oceny współwystępującego stłuszczenia wątroby.

2. Czynnikiem, który może mieć wpływ na uzyskane wyniki, jest również mała liczba pacjentów z zaawansowanym włóknieniem i marskością. Upośledzenie funkcji wątroby nie zawsze koreluje z zasięgiem włóknienia. Brak pacjentów ze znacznym upośledzeniem funkcji wątroby, co można wnioskować na podstawie wyników skali Child-Pugh - brak pacjentów z grupy Child-Pugh B i C, również może mieć znaczenie dla uzyskanych wyników. Ograniczenia, te powinny być także wzięte pod uwagę.

3. Do czynników związanych z częstszym występowaniem MHE należą alkoholowa etiologia choroby wątroby, cukrzyca typu 2, czy występująca u pacjentów z marskością sarkopenia. Są to kolejne czynniki, które oddziałują na funkcję wątroby, ale także na zdolności poznawcze i funkcje neurologiczne, i mogą wpływać na uzyskane wyniki, a do których Autorka nie odnosi się w swojej rozprawie.

4. Autorka szczegółowo opisuje uzyskane wyniki. Brak natomiast krótkiego podsumowania uzyskanych wyników, co pozwoliłoby na łatwiejszą interpretację i ocenę przedstawionych wniosków.

5. W kryteriach wyłączenia Autorka używa stwierdzenia „choroby współistniejące wpływające na funkcję wątroby". Wydaje się, że jest to stwierdzenie zbyt ogólne, ponieważ szeroka interpretacja tak postawionego kryterium, nie pozwalałby włączyć nawet pacjentów z prostym stłuszczeniem wątroby, które także w pewnym odsetku pacjentów może być przyczyną wzrostu aktywności transaminaz, bez znaczącego wpływu na funkcję wątroby.

6. Wniosek 5 „Nieznacznie podwyższony wynik w skali MELD może wskazywać na większe ryzyko MHE u pacjentów z PBC, dzięki czemu mógłby stanowić potencjalny test przesiewowy w diagnostyce MHE, lecz wymaga to przeprowadzenia dalszych badań" jest obserwacją, która stanowi częściową odpowiedź na pytanie zawarte w celu 3. Brak natomiast we wnioskach odpowiedzi na cel 5 „Ocena związku pomiędzy występowaniem poszczególnych składowych encefalopatii wątrobowej i stopniem jej nasilenia, a zaburzeniami układu krzepnięcia z uwzględnieniem wybranych parametrów uzyskanych w tromboelastometrii".

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

7. Autorka używa terminu „zwłóknienie" wątroby. Jest to termin niezgrabny, używany w języku potocznym i powinien być zastąpiony przez termin „włóknienie" stosowany w terminologii medycznej.

Uwagi redakcyjne dotyczą braku numeracji od 38. strony.

Przedstawione powyżej uwagi nie umniejszają jednak wartości merytorycznej pracy, jak również możliwości wykorzystania wyników w praktyce klinicznej. Reasumując uważam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarz Dagmary Bogdanowskiej-Charkiewicz pt.: „***Minimalna encefalopatia wątrobowa u chorych z pierwotnym zapaleniem dróg żółciowych***" w sposób klarowny i przejrzysty analizuje problem występowania minimalnej encefalopatii u pacjentów PBC bez i z marskością wątroby, jej związek z parametrami laboratoryjnymi, jak również sposoby jej diagnozowania przy użyciu testów psychometrycznych. Uzyskane wyniki stanowią istotne uzupełnienie stanu wiedzy w tym obszarze i mogą być przydatne w codziennej praktyce klinicznej. Zwracają uwagę, na istotny problem możliwego występowania MHE u pacjentów z PBC jeszcze przed stadium marskości, a postawienie diagnozy MHE pozwala potencjalnie wyróżnić pacjentów, którzy odniosą korzyść z odpowiednio wcześnie zastosowanego leczenia.

Autorka dysertacji wykazała się skrupulatnością, wnikliwością i rzetelnością, jak również bardzo dobrą znajomością warsztatu badawczego i obecnego stanu wiedzy.

Biorąc pod uwagę powyższe, jak również fakt, iż praca spełnia wszystkie warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t. j. Dz. U nr 65, poz. 595 z poźn. zm.) oraz art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. oraz z przepisami wprowadzającymi ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z poźn. zm.), zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Autorki, lekarz Dagmary Bogdanowskiej-Charkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Michał Kukla, prof. UJ

Michał Kukla

ul. św. Anny 12, 31-008 Kraków, tel. +48 12 370 43 00, +48 12 422 00 09
www.cm-uj.krakow.pl