



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY  
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

---

Zakład Medycyny Laboratoryjnej

Dr hab. n. med. Olga Ciepiela  
Zakład Medycyny Laboratoryjnej  
Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa  
Tel. 22 5992405  
e-mail: olga.ciepiela@wum.edu.pl

Warszawa, 04.01.2023

### **Recenzja rozprawy doktorskiej**

**Mgr Agnieszki Muchy**

**pt. „Ocena stężenia izoform transferyny we krwi chorych na pierwotne zapalenie dróg  
żółciowych oraz zapalenia trzustki”**

Promotor pracy: prof. dr hab. Lech Chrostek

Diagnostyka laboratoryjna chorób wątroby i trzustki opiera się głównie o uznane markery biochemiczne, w tym o ocenę aktywności enzymów: aminotransferazy alaninowej, aminotransferazy asparaginowej, fosfatazy alkalicznej, gammaglutamylotranspeptydazy, dehydrogenazy mleczanowej, amylazy i lipazy; oraz substancji produkowanych w wątrobie takich jak bilirubina i jej frakcje, kwasy żółciowe, albumina czy czynniki krzepnięcia. Stan zapalny leżący u podłoża części chorób tych narządów wykrywa się za pomocą oznaczenia stężenia białek ostrej fazy czy wykonywania oznaczenia morfologii krwi. Występowanie chorób wątroby o podłożu autoimmunizacyjnym potwierdza się za pomocą wykrycia w surowicy swoistych autooprzeciwciał. Wymienione markery, chociaż pozwalają z dużym prawdopodobieństwem wykryć stan chorobowy wątroby i trzustki, nie spełniają kryterium markerów w pełni swoistych. Należy również podkreślić, że pomimo charakterystycznych objawów i obrazu histologicznego nie u każdego pacjenta z zaburzeniem autoimmunizacyjnym wątroby udaje się wykryć w surowicy obecność autooprzeciwciał. Dlatego wyzwaniem współczesnej medycyny laboratoryjnej w chorobach wątroby i trzustki jest ustalenie dodatkowych biomarkerów, które ułatwią proces diagnostyczny, przyspieszą postawienie rozpoznania i wdrożenie leczenia.

ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa  
tel.: 22 599 24 05, faks: 22 599 21 04  
e-mail: olgal.ciepiela@wum.edu.pl  
www.wum.edu.pl

Pani mgr Agnieszka Mucha w swojej rozprawie doktorskiej postanowiła zbadać, czy sjalowane formy transferyny, glikoproteiny produkowanej głównie w wątrobie, mogą pełnić funkcję biomarkera w pierwotnym zapaleniu dróg żółciowych (PBC), ostrym zapaleniu trzustki (OZT) oraz przewlekłym zapaleniu trzustki (PZT). Ponieważ wykazano we wcześniejszych doniesieniach, że w przebiegu przewlekłego zapalenia wątroby czy raka trzustki elektroforegram sjalowanych form transferyny wykazuje obecność charakterystycznych prążków, podjęcie się zbadania tego zagadnienia w PBC, OZT i PZT uważam za w pełni uzasadnione. Dodatkowo, podjęcie się próby znalezienia nowych, swoistych markerów tych zaburzeń stanowi istotny wkład Doktorantki do rozwoju aktualnej wiedzy medycznej.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska ma charakter opracowania opartego o zbiór dwóch już opublikowanych monotematycznych artykułów naukowych. W skład zbioru wchodzi dwie prace oryginalne pełnotekstowe, w obu publikacjach autorka jest pierwszym autorem. Sumaryczny wskaźnik oddziaływania prac (IF) wynosi 9,206; a uzyskana liczba punktów ministerialnych to 280. Wysoki IF włączonych w skład rozprawy publikacji jednoznacznie podkreśla wysoki poziom naukowy rozprawy. Rozprawa składa się z rozdziału określającego dorobek naukowy doktorantki, wykazu skrótów, wstępu teoretycznego, celu pracy, opisu użytych materiałów i zastosowanych metod badawczych, zwięzłego opisu zawierającego podsumowanie uzyskanych wyników, dyskusji, streszczeń w języku polskim i angielskim, publikacji stanowiących podstawę do przygotowania rozprawy, zgód właściwej Komisji Bioetycznej oraz oświadczeń autorki i współautorów o charakterze wkładu w opublikowanych pracach. Tym samym, rozprawa spełnia techniczne warunki pracy doktorskiej.

Na samym początku rozprawy został umieszczony wykaz skrótów, który zdaniem recenzenta nie jest wyczerpujący. W pełnej wersji pracy, zarówno w polskiej wersji rozprawy jak i dołączonych anglojęzycznych artykułach oryginalnych pełnotekstowych znajdują się skróty, których Autorka nie rozwinęła w podanym wykazie. We wstępie Doktorantka wyczerpująco opisuje podstawy diagnostyki badanych zaburzeń, tj. PBC, OZT i PZT oraz tłumaczy jak dochodzi do powstawania sjalowanych form transferyny i dlaczego właśnie tą glikoproteiną się zainteresowała. Do tej części pracy mam jedynie jedną uwagę – w mojej ocenie do opisywania chorób, u podłoża których leży aktywność autoprzeciwciał, należy zastosować określenie „autoimmunizacyjne”, a nie „autoimmunologiczne”. Uwaga ta dotyczy

sformułowania m.in. na 10 stronie rozprawy przy opisie pierwotnego zapalenia dróg żółciowych.

Założenia i cele pracy zostały sformułowane w sposób jasny i odpowiadający założeniom metodologicznym pracy. Głównym celem badawczym było oznaczenie stężeń izoform transferyny w surowicy krwi w pierwotnym zapaleniu dróg żółciowych oraz ostrym i przewlekłym zapaleniu trzustki.

Wyniki badań zostały przedstawione wyczerpująco w formie cyklu publikacji. Artykuły, wchodzące w skład rozprawy stanowią spójną, logiczną całość. Wszystkie dotyczą oceny udziału procentowego sjałowanych form transferyny w surowicy pacjentów z PBC, OZT i PZT w odniesieniu do aktywności i stężeń znanych i stosowanych obecnie biomarkerów uszkodzenia wątroby i trzustki.

W rozdziale 6 „Wyniki” Doktorantka opisuje uzyskane przez siebie rezultaty badań. Rozdział przygotowany jest w bardzo zwartej formie, co jest uzasadnione, biorąc pod uwagę fakt, że w rozprawie zamieszczona jest oryginalna, pełna forma pracy. Z obowiązku recenzenta muszę jednak podkreślić sformułowanie (zastosowane zarówno w wersji polskiej jak i angielskiej), że „stężenie kwasów żółciowych w surowicy wzrosło istotnie w porównaniu z grupą kontrolną”. Zwracam uwagę, że Autorka nie oceniała zmian w czasie danych parametrów, a jedynie określała stężenia i/lub aktywności badanych parametrów w grupie badanej w odniesieniu do grupy kontrolnej. Stąd należałoby napisać, że stężenie kwasów żółciowych było istotnie wyższe. Podobnego sformułowania użyto w opisie drugiej publikacji w odniesieniu do pentasjałotransferyny i trisjałotransferyny w OZT i PZT. Uczulam, aby w przyszłych publikacjach nie stosować określenia dotyczącego zmian stężenia i/lub aktywności parametrów, jeśli oceniamy je tylko w jednym punkcie czasowym.

Pierwszą zaprezentowaną pracą oryginalną pełnotekstową jest Grytczuk A, Bauer A, Gruszcwska E, Cyłwik B, Chrostek L. Changed Profile of serum transferrin isoforms in primary biliary cholangitis. J Clin Med. 2020; 9:2894. Celem pracy było wykazanie obecności charakterystycznego wzoru elektroforetycznego izoform transferyny w PBC oraz potwierdzenie za jego pomocą toksycznego wpływu retencji kwasów żółciowych na błony organelli komórkowych hepatocytów. Autorka wykazała, że w przebiegu PBC występują niższe stężenia disjałotransferyny niż w cholestazie zewnątrzwątrobowej i grupie kontrolnej.

Nie wykazała różnic między zawartością pozostałych izoform transferyny między PBC i grupą kontrolną, jednocześnie wykazując istotnie niższe stężenie tetrasjalotransferyny i istotnie wyższe stężenie pentasjalotransferyny niż w grupie pacjentów z cholestazą zewnątrzwątrobową. Co ciekawe, Autorka nie wykazała związku między ciężkością choroby a składem izoform transferyny w PBC. W tym miejscu proszę o wyjaśnienie przez Doktorantkę, dlaczego w tabeli 1 w tej publikacji umieściła wszystkie wartości badanych parametrów w formie średniej i odchylenia standardowego, pomimo tego, że pewna ich część nie wykazuje rozkładu normalnego, jak na przykład ALT, GGT i bilirubina gdzie SD przewyższa wartość wyznaczonych średnich.

W drugiej publikacji z cyklu: Mucha A, Zaczek M, Kralisz M, Gruszewska E, Cylwik B, Panasiuk A, Chrostek L. The serum profile of transferrin isoforms in pancreatitis. *J Clin Med.* 2022; 11(6):1638 Doktorantka opisała wyniki oznaczenia izoform transferyny w grupie pacjentów z ostrym i przewlekłym zapaleniem trzustki. Pewna nieścisłość wkradła się w streszczenie publikacji (Abstract), gdzie zostały wymienione grupy ostrego zapalenia trzustki i przewlekłego zapalenia wątroby, zamiast trzustki. W treści artykułu ta omyłka więcej się nie pojawia. Autorka wykazała istotne różnice w stężeniach poszczególnych form transferyny między grupą kontrolną a grupami badanymi, nie zaobserwowała natomiast różnic w składzie izoform tej glikoproteiny między grupami OZT i PZT. Ta obserwacja ma szczególne znaczenie, ponieważ dzięki niej udało się Autorce potwierdzić, że zmiana w stopniu sializacji transferyny zależy od przyczyny choroby (w tym przypadku zapalenia), a nie od dotkniętego chorobą narządu. Wyniki te stanowią więc istotny wkład w zrozumienie występowania modyfikacji glikoprotein w przebiegu stanów chorobowych w obrębie narządów układu pokarmowego. Niestety, podobnie jak w poprzedniej pracy, Doktorantka nie uniknęła podania wyników badań w formie średniej i odchylenia standardowego, pomimo tego, że uzyskane wartości wskazują na brak rozkładu normalnego.

Podsumowując część pracy zawierającą wyniki badań nasuwa mi się jedno pytanie związane z naturalną zmiennością form transferyny: czy Doktorantka mogłaby określić, czy istnieją różnice w składzie sialowanych form tej glikoproteiny między płciami? Pytanie to wiąże się bezpośrednio z odmiennym udziałem kobiet i mężczyzn w grupach badanych i kontrolnych w obu pracach.

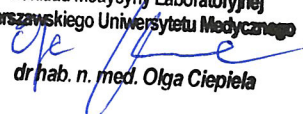
Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka wysunęła 5 wniosków, które znajdują odzwierciedlenie w postawionych wcześniej celach badawczych. Na szczególne uznanie

zasługuje podkreślenie, że w PBC wzór elektroforetyczny izoform transferyny jest specyficzny i różni się od cholestazy zewnątrzwątrobowej oraz że zmiany izoform transferyny zależą od przyczyny choroby a nie jej lokalizacji narządowej. Zdaniem recenzenta trzeci wniosek powinien być z tego rozdziału usunięty, ponieważ stanowi jedynie podsumowanie uzyskanych wyników, a nie faktyczny wniosek.

Podsumowując, rozprawę na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu mgr Agnieszki Muchy oceniam bardzo dobrze. Doktorantka wykazała dobre przygotowanie teoretyczne, opanowanie warsztatu badawczego oraz umiejętność analizy uzyskanych wyników. Wyniki rozprawy mają dużą wartość naukową i diagnostyczną. Cykl dwóch publikacji to rozprawa kompletna skupiająca się na zaburzeniach przemiany transferyny związanych z narządami układu pokarmowego. Dobór metod badawczych i testów statystycznych jest w pełni uzasadniony. Zarówno publikacje i cała rozprawa jest pisana bardzo płynnie i czyta się je z przyjemnością.

W mojej ocenie rozprawa spełnia warunki określone w art.187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2018 poz.1668), dlatego wnoszę do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie pani mgr Agnieszki Muchy do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na wysoką wartość naukową opublikowanych wyników doktoratu, co odzwierciedla wskaźnik oddziaływania IF załączonych prac, wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

Warszawa, 04.01.2023

KIEROWNIK  
Zakładu Medycyny Laboratoryjnej  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego  
  
dr hab. n. med. Olga Ciepiela

Dr hab. n. med. Olga Ciepiela

