Recenzja

rozprawy doktorskiej lekarz Marty Flisiak-Jackiewicz pt.: ***"Rola interleukiny 18 i wybranych hepatokin w patogenezie niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby u dzieci".***

Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (*nonalcoholic fatty liver disease,* NAFLD), jest w państwach wysoko uprzemysłowionych najczęstszą przewlekłą chorobą wątroby, którą cechuje ścisły związek z nadwagą lub otyłością oraz zespołem metabolicznym. Niestety stały wzrost epidemii otyłości i cukrzycy powoduje także postępujący wzrost liczby pacjentów z NAFLD. Szczególnie niepokojącym jest wzrost częstości występowania NAFLD u dzieci i młodzieży. W oparciu o analizę bioptatów wątrobowych pacjentów z NAFLD, wyróżnia się dwa podtypy tej choroby tj. stłuszczenie proste i niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (*nonalcoholic staetohepatitis,* NASH). Cechami niezbędnymi do rozpoznania niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby są stłuszczenie wątroby razem z występowaniem zapalenia śródzrazikowego i obecnością hepatocytów baloniastych. Do rozpoznania NASH nie jest niezbędne włóknienie miąższu wątroby, choć jest ono najważniejszym czynnikiem rokowniczym dla pacjentów z NAFLD. Etiopatogeneza NAFLD stanowi, trudny, złożony i nie do końca poznany problem interdyscyplinarny, będący domeną zainteresowań przede wszystkim hepatologów, endokrynologów i diabetologów. Aktualnie uważa się, że kluczową rolę w rozwoju tego schorzenia odgrywa otyłość brzuszna związana ze wzrostem objętości trzewnej tkanki tłuszczowej i insulinoopornością. Spadek insulinowrażliwości receptorów insulinowych zlokalizowanych na adipocytach trzewnej tkanki tłuszczowej prowadzi do nasilonej lipolizy, prowadzącej do istotnego wzrostu stężenia wolnych kwasów tłuszczowych, co powoduje powstanie stresu oksydacyjnego i zaburzenia metabolizmu w mitochondriach hepatocytów. Stres oksydacyjny prowadzi do nadmiernej produkcji wolnych rodników, które aktywują komórki układu immunologicznego (głównie makrofagi), które z kolei aktywują komórki gwiaździste. Aktywowane komórki gwiaździste przekształcają się w miofibroblasty odpowiedzialne za produkcję kolagenu, a przez to rozwój i postęp włóknienia wątroby. Stan taki prowadzi do dalszej nadmiernej syntezy wolnych rodników i cytokin prozapalnych, które w konsekwencji powodują uszkodzenie hepatocytów lub aktywują proces apoptozy. Efektem ww. procesów jest stłuszczenie, a następnie zapalenie i włóknienie tkanki wątrobowej.

Istotna w rozwoju i postępie NAFLD jest, stosowana głównie w krajach wysokorozwiniętych, bogatotłuszczowa dieta, z dużą ilością nasyconych kwasów tłuszczowych i fruktozy.

Trzewna tkanka tłuszczowa jest największym narządem o działaniu endokrynnym, produkującym hormony zwane adipokinami (adipocytokinami) odgrywającymi istotną rolę w regulacji procesów metabolicznych oraz rozwoju NAFLD. Kolejną grupą czynników, które oddziałują procesy związane z patogenezą NAFLD są produkowane przez wątrobę hepatokiny.

W związku z faktem, że NAFLD wykazuje ścisły związek z nadwagą lub otyłością i zespołem metabolicznym postępowanie terapeutyczne można podzielić na leczenie składowych zespołu metabolicznego tj. nadwagi lub otyłości, zaburzeń lipidowych, zaburzeń gospodarki węglowodanowej i nadciśnienia tętniczego oraz leczenie hepatoprotekcyjne. Podstawą leczenia pozostaje jednak wciąż zmiana stylu życia, związana z aktywnością fizyczną i spadkiem masy ciała. Opanowanie światowej epidemii otyłości nie jest możliwe bez właściwej profilaktyki oraz edukacji społecznej. Spadek masy ciała można osiągnąć poprzez wspomnianą dietę i aktywność fizyczną, ale jest to bardzo trudne, a efekt najczęściej jest krótkotrwały.

Skutecznie leczenie otyłości i NAFLD jest szczególnie istotne ze względu na rozwój szeregu powikłań, których ryzyko ściśle wiąże się z nasileniem otyłości i zaawansowaniem NAFLD. Powikłania obejmują:

1. Zaburzenia metaboliczne: hiperlipidemia, insulinooporność i ogólnoustrojowa reakcja zapalna.
2. Choroby układu krążenia.
3. Pewne rodzaje nowotworów (w tym raka wątrobowokomórkowego, HCC).

Przedstawiona do recenzji rozprawa liczy 39 stron oraz kopie artykułów włączonych i będących podstawą do rozprawy doktorskiej. Ma ona formę niepublikowanego opracowania komputerowego w twardej oprawie. Składa się z 12 rozdziałów poprzedzonych spisem treści. Wstęp poprzedzony jest zestawieniem publikacji Autorki, wykazem publikacji stanowiących rozprawę doktorską i wykazem stosowanych skrótów. Dysertacja zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim oraz zawiera 19 pozycji piśmiennictwa. Rozprawa doktorska oparta jest na dwóch pracach oryginalnych (praca 1 i 2) i jednej pracy poglądowej (praca 3).We wszystkich pracach Autorka jest pierwszym autorem. Prace to:

1. Flisiak-Jackiewicz Marta i wsp. Predictive role of IL-18 in liver steatosis in obese children. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2018; 3870454. IF 1,622; MNiSW 20.
2. Flisiak-Jackiewicz Marta i wsp. Can hepatokines be regarded as novel non-invasive serum biomarkers of intrahepatic lipid content in obese children? *Advances in Medical Sciences* 2019; 64(2):280-284. IF 2,064; MNiSW 15.
3. Flisiak-Jackiewicz Marta, Lebensztejn Dariusz Marek. Update on pathogenesis, diagnostics and therapy of nonalcoholic fatty liver disease in children. *Clinical and Experimental Hepatology* 2019; 5(1):11-21.MNiSW 7.

We ***„Wstępie"*** liczącym 3 strony, Autorka wprowadza czytelnika w problematykę będącą przedmiotem dysertacji. Jednocześnie przedstawia krótki rys historyczny dotyczący postrzegania problemu NAFLD u dzieci. Omawia obowiązujące teorie tłumaczące patogenezę NAFLD, szczególnie zwracając uwagę na teorię wielu równoległych uderzeń i rolę czynników genetycznych oraz mikrobioty jelitowej. Zwraca uwagę na narastający problem związany z rozwojem NAFLD u dzieci oraz konieczność poszukiwania nowych, nieinwazyjnych markerów choroby, co stanowi uzasadnienie podjęcia tematu. Krótko omawia poznane do tej pory markery, których wartość diagnostyczną w NAFLD do tej pory oceniano. Wstęp znakomicie wprowadza w tematykę, którą obejmują przedstawione prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej i jednocześnie uzasadnia cele i tematykę przeprowadzonych badań.

W kolejnym rozdziale ***„Omówienie prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej"*** Autorka przedstawia jaki był cel przewodni, zbieżny w obu pracach oryginalnych. Zaznacza, że wzbogacenie rozprawy o pracę poglądową pozwala na podsumowanie i usystematyzowanie dotychczasowej wiedzy w zakresie NAFLD u dzieci. Celem przewodnim prac oryginalnych była ocena zależności pomiędzy stężeniami w surowicy oznaczanych w badaniach: IL-18 i wybranych hepatokin (czynnika wzrostu fibroblastów 19 [FGF-21], seleneproteiny P1 [SELENOP] i globuliny wiążącej hormony płciowe [SHBG], a występowaniem NAFLD u

dzieci, a także analiza związku pomiędzy ich stężeniami a wskaźnikami uszkodzenia hepatocytów, parametrami metabolizmu węglowodanów i lipidów oraz nasileniem stłuszczenia wątroby. Dokonano także podsumowania najnowszych doniesień dotyczących patomechanizmów biorących udział w patogenezie NAFLD oraz możliwości diagnostycznych i terapeutycznych.

W następnym rozdziale ***„Omówienie prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej"*** Autorka szczegółowo omawia kolejno prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej.

Praca 1 (***Predictive role of IL-18 in liver steatosis in obese children.*** *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*).

W pracy tej wykazano znamiennie wyższe stężenie IL-18 u dzieci otyłych w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono pozytywną korelację pomiędzy stężeniem IL-18 a aktywnością ALT, GGT, hsCRP oraz stopniem stłuszczenia wątroby ocenianym na podstawie obrazu USG jamy brzusznej. Dzieci z NAFLD miały wyższe stężenie IL-18, aktywnością ALT i GGT, większą insulinoopornością, wyższym BMI oraz wyższym stopniem stłuszczenia w obrazie USG j. brzusznej i większą zawartością tłuszczu w ^{1}HMRS. Poziom IL-18 wzrastał istotnie u dzieci otyłych z bardziej zaawansowanym stłuszczeniem wątroby. Na podstawie wyników wykazano przydatność oznaczania IL-18 w różnicowaniu dzieci otyłych ze stłuszczeniem wątroby potwierdzonym w ^{1}HMRS od pozostałych badanych z ustaleniem punktu odcięcia.

Praca 2 (***Can hepatokines be regarded as novel non-invasive serum biomarkers of intrahepatic lipid content in obese children?*** *Advances in Medical Sciences*).

Celem pracy było ustalenie zależności pomiędzy stężeniami wybranych hepatokin (czynnika wzrostu fibroblastów 19 [FGF-21], seleneproteiny P1 [SELENOP] i globuliny wiążącej hormony płciowe [SHBG], a występowaniem NAFLD u dzieci. Dodatkowo oceniono czy oznaczane czynniki mogą być wykorzystane jako markery prognozujące progresję choroby.

Wykazano wyższe stężenia FGF-21, SELENOP oraz niższe stężenia SHGB u dzieci z NAFLD. Ponadto stężenie FGF-21 było znamiennie wyższe u otyłych dzieci z NAFLD w porównaniu z otyłymi dziećmi bez NAFLD. Stężenie pozostałych hepatokin nie różniło się pomiędzy otyłymi dziećmi z i bez NAFLD. Stężenie FGF-21 wzrastało wraz z bardziej zaawansowanym stłuszczeniem i korelowało z aktywnością ALT, GGT, nasileniem insulinooporności i zawartością lipidów w wątrobie ocenianą w ^{1}HMRS.

Na podstawie Pracy 1 i Pracy 2 autorka stwierdza, że wykazanie wyższego stężenia IL-18 i FGF-21 we krwi u dzieci otyłych z NAFLD, a także korelacji ze wskaźnikami uszkodzenia hepatocytów, zaburzenia metabolizmu lipidów i węglowodanów oraz nasileniem stłuszczenia wątroby sugeruje ich udział w patogenezie NAFLD.

Praca 3 (poglądowa; ***Update on pathogenesis, diagnostics and therapy of nonalcoholic fatty liver disease in children.*** *Clinical and Experimental Hepatology*).

W pracy tej autorka przeprowadza podsumowanie najnowszych doniesień dotyczących patogenezy, możliwości diagnostycznych i terapeutycznych NAFLD u dzieci. Zwraca uwagę na potrzebę poszukiwania nowych, prostych, nieinwazyjnych metod przydatnych w ocenie zaawansowania i progresji zmian w przebiegu NAFLD. Omawia przydatność i zastosowanie niektórych markerów stanu zapalnego, apoptozy i stresu oksydacyjnego oraz zastosowanie wybranych metod obrazowych.

Kolejny rozdział to ***„Piśmiennictwo"***. Jak wspomniano wcześniej obejmuje ono 19 pozycji, z czego 12 pozycji to prace opublikowane w okresie ostatnich 5 lat.

Następny rozdział to ***„Publikacje stanowiące rozprawę doktorską"***. Obejmuje on kopie trzech wcześniej omówionych prac.

Kolejne rozdziały to ***„Streszczenie"*** w języku polskim, ***„Summary"*** w języku angielskim, ***„Informacja o charakterze udziału współautorów", „Oświadczenia współautorów" i „Uchwała Komisji Bioetycznej".***

Podsumowując, należy stwierdzić, że przedstawiona rozprawa doktorska omawia bardzo ważny problem NAFLD u dzieci, którego częstość niestety będzie wzrastać wraz z rozwojem epidemii otyłości i cukrzycy, także u dzieci. Cele które przedstawiła doktorantka w obu artykułach są jasne i wiążą się z problemem diagnostyki NAFLD u dzieci.

Wyniki prac zostały przedstawione w sposób staranny, przejrzysty, logiczny, w oparciu o odpowiednie metody statystyczne. Wnioski formułowane przez doktorantkę są jasne i stanowią podsumowanie uzyskanych wyników, odpowiadając postawionym celom badań.

Wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej należy ocenić bardzo wysoko, szczególnie prac oryginalnych, które wcześniej przeszły przez gęste sito recenzji. Z pewnością wartość podnosi dodatkowo zamieszczona praca poglądowa, która podsumowuje i systematyzuje dotychczasową wiedzę. Autorka we wszystkich pracach jest pierwszym autorem. Przedstawione prace, jak również wstęp rozprawy doktorskiej świadczą o dużej wiedzy Autorki w temacie NAFLD u dzieci, jak również swobodnym poruszaniu się w poszczególnych aspektach związanych z patogenezą, diagnostyką i leczeniem tego schorzenia.

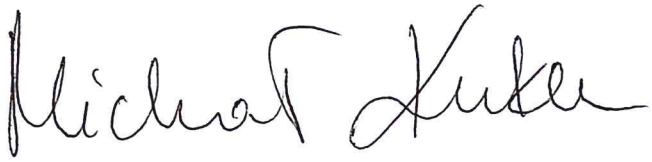
Część poświęcona syntezie osiągnięcia naukowego nasuwa kilka uwag:

1. Wydaje się, że korzystne byłoby krótkie podsumowanie, omawiające wnioski wypływające z poszczególnych, wchodzących w skład rozprawy prac, szczególnie w aspekcie znaczenia omawianych czynników w patogenezie NAFLD, co odnosiłoby się

do tytułu rozprawy. Pozwoliłoby to łatwiejszą interpretację uzyskanych wyników i sformułowanych wniosków.

2. W tekście należy ujednolicić pisownię FGF21 lub FGF-21.
3. Przy opisie badania USG należy uściślić typ badania, a więc w tym przypadku USG jamy brzusznej.

Reasumując uważam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarz Marty Flisiak-Jackiewicz pt.: ***"Rola interleukiny 18 i wybranych hepatokin w patogenezie niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby u dzieci"*** porusza ważne aspekty dotyczące patogenezy i diagnostyki NAFLD/NASH u dzieci. Dysertacja stanowi istotne uzupełnienie stanu wiedzy w obszarze możliwości diagnostycznych dzieci z NAFLD, a przedstawione uwagi w żaden sposób nie obniżają wartości merytorycznej rozprawy. Autorka dysertacji wykazała się skrupulatnością, wnikliwością i rzetelnością, jak również bardzo dobrą znajomością warsztatu badawczego i obecnego stanu wiedzy. Uzyskane wyniki mają nie tylko ważny aspekt poznawczy, ale także potencjalny aspekt praktyczny.

Biorąc pod uwagę powyższe, jak również fakt, iż praca spełnia wszystkie warunki określone w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30 października 2015 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Autorki, lekarz Marty Flisiak-Jackiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Michał Kukla