

Lublin, 18-07-2018 r.

Dr hab. n. med. Helena Donica
Zakład Diagnostyki Biochemicznej
Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej
UM w Lublinie

OPINIA
dotycząca rozprawy doktorskiej
mgr Łukasza Supronowicza
na temat:
„Zastosowanie nieinwazyjnych biomarkerów do diagnostyki alkoholowych
chorób wątroby”

Nadużywanie alkoholu jest najczęstszą przyczyną chorób wątroby w krajach rozwiniętych. Wątroba jest głównym miejscem metabolizmu alkoholu etylowego i jej uszkodzenie najbardziej widoczne jest w obrazie klinicznym. W zależności od czasu, ilości spożywanego alkoholu oraz uwarunkowań genetycznych, obserwowane zmiany w wątrobie mają postać stłuszczenia, zapalenia, zwłóknienia oraz marskości i określane są jako poalkoholowe choroby wątroby.

Za złoty standard rozpoznania i określenia stopnia zaawansowania choroby uznawana jest przeszkońska biopsja, która jest metodą inwazyjną, czasami powodującą powikłania. Postęp w zrozumieniu zjawisk patofizjologicznych i rozpoznanie historii naturalnej chorób wątroby, jak również pojawienie się nowych metod diagnostycznych o charakterze

nieinwazyjnym zmieniły w ostatnim czasie wskazania do wykonania biopsji wątroby.

Osiągnięciem ostatnich lat w diagnostyce laboratoryjnej są nieinwazyjne metody obrazowe i laboratoryjne oceny zmian zachodzących w wątrobie. Wśród nieinwazyjnych wskaźników laboratoryjnych coraz większe znaczenie przypisuje się algorytmom wyliczanym na podstawie kilku wybranych parametrów biochemicznych. Niektóre algorytmy dodatkowo wykorzystują do kalkulacji również dane demograficzne pacjenta. Na rynku dostępne są opatentowane testy komercyjne (FibroTest i FibroMax) stanowiące alternatywę dla biopsji. Jednak nadal histopatologiczna ocena wątroby stanowi podstawę wnioskowania diagnostycznego, rokowniczego i decyzyjnego w kwestii wyboru terapii.

W oparciu o przytoczone przesłanki, wybór tematu rozprawy doktorskiej „Zastosowanie nieinwazyjnych biomarkerów do diagnostyki alkoholowych chorób wątroby” podjętego przez mgr Łukasza Supronowicza jest trafny i może mieć również znaczenie praktyczne.

Rozprawa doktorska mgr Łukasza Supronowicza napisana jest w sposób typowy dla tego rodzaju prac, zawiera 130 stron wydruku komputerowego podzielonego na: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografię oraz wykaz tabel i rycin. Praca oparta jest na 140 pozycjach piśmiennictwa, głównie anglojęzycznego. Piśmiennictwo wykorzystane w rozprawie jest adekwatne do realizowanej tematyki rozprawy doktorskiej.

We wstępie liczącym 28 stron maszynopisu Doktorant uzasadnia wybór tematu rozprawy. Po krótkim omówieniu definicji uzależnienia, etiopatogenezy alkoholowej choroby wątroby, Doktorant w dalszej kolejności charakteryzuje objawy kliniczne tej choroby, która może przybierać postać alkoholowego stłuszczenia wątroby (AFLD), alkoholowego zapalenia wątroby, alkoholowego

stłuszczeniowego zapalenia wątroby (ASH), zwłóknienia wątroby (LF) oraz marskości i raka wątroby. W końcowej części wstępu Doktorant skupia się na omówieniu bezpośrednich i pośrednich testów laboratoryjnych opartych na wyliczanych algorytmach, stosowanych w ocenie poalkoholowych zmian zachodzących w wątrobie. Autor podkreśla, iż większą wartość diagnostyczną mają wyliczane algorytmy, łączące kilka parametrów, od pojedynczego badania biochemicznego. Opracowanie to stanowi podstawę do sformułowania celu badań własnych.

Celem pracy doktorskiej mgr Łukasza Supronowicza była ocena częstości występowania alkoholowych chorób wątroby (stłuszczenia, zwłóknienia, marskości, stłuszczeniowego zapalenia wątroby i aktywności martwiczo-zapalnej) za pomocą opatentowanych testów (FibroMax i Hepascore) i nieopatentowanych (APRI, index Fornsa, FIB-4, GAPRI i API) oraz ocena wartości diagnostycznej zastosowanych markerów.

Autor realizował cel pracy w oparciu o badania przeprowadzone w grupie 142 osób hospitalizowanych na Oddziale Leczenia Alkoholowych Zespołów Abstynencyjnych SPP ZOZ w Choroszczy. U chorych pobierano krew do badań biochemicznych i hematologicznych. Parametry biochemiczne oznaczano na analizatorze Architect ci 8200 z wykorzystaniem odczynników komercyjnych. Morfologię krwi wykonano na analizatorze Sysmex XS-800i. Na przeprowadzenie badań Doktorant uzyskał zgodę Komisji Biotycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Na podstawie wykonanych badań laboratoryjnych jak i dodatkowych danych demograficznych (wiek, płeć, masa ciała, wzrost) przeprowadzono komputerową analizę wskaźników wchodzących w skład testu FibroMax i Hepatoscore. Ponadto Doktorant wyliczył algorytmy: APRI, FIB4, wskaźnik Fornsa, GAPRI i AP index.

Zastosowany przez Doktoranta nieinwazyjny test FibroMax firmy BioPredictive jest sumą 5-ciu testów: FibroTestu, SteatoTestu, AshTestu i ActiTestu i jest on ukierunkowany na diagnostykę: stłuszczenia, zwłóknienia, aktywności martwiczo-zapalnej, niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby i alkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby.

Wyniki testu FibroMax Doktorant odniósł do skali ustalonej przez producenta testu. Z kolei producent wyznaczył zakresy wskaźników dla testów w oparciu o skalę METAVIR ustaloną na podstawie biopsji wątroby.

Rozdział IV „Wyniki badań” obejmuje 34 strony, podzielony jest na 14 podrozdziałów. Otrzymane w przebiegu pracy rezultaty zostały zaprezentowane przez Doktoranta w sposób logiczny i uporządkowany w formie 12 tabel i 36-ciu rycin.

Analiza uzyskanych wyników badań przez Doktoranta na podstawie testu FibroMax, odniesiona do skali podanej przez producenta testów wykazała, iż u 62% osób nadużywających alkoholu występowało stłuszczenie o różnym stopniu nasilenia, przy czym u 20,1% pacjentów miało najwyższy stopień stłuszczenia wątroby- S2. Zwłóknienie wątroby stwierdzono u 61,3% osób nadużywających alkoholu, najczęściej obserwowano zwłóknienie (F1-F2 plus F2) u 28,4% pacjentów. Najwyższy stopień zwłóknienia (F3-F4 plus F4) zaobserwowano u 5,8% pacjentów, zaś marskość wątroby u 10,3%.

Alkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (ASH) obecne było tylko u 5,9% pacjentów nadużywających alkoholu (H1 plus H3). Ostre alkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby zaobserwowano tylko u jednego pacjenta.

Niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NASH) w skali N1 plus N2 występowało u 43,3% pacjentów.

Aktywność zapalną wątroby wykazano u 64,4% osób nadużywających alkoholu. Najwyższy stopień aktywności zapalnej A3 obserwowano u 16,8% badanych.

Do oceny istotnego i nieistotnego zwłóknienia w grupie badanych pacjentów Doktorant posłużył się nieopatentowanymi testami APRI, FIB4, wskaźnik Fornsa, GAPRI i AP index w oparciu o literaturowe punkty odcięcia. Algorytm APRI wykorzystał też do porównania pacjentów z istotną i nieistotną marskością. Nieopatentowane testy, z wyjątkiem FIB-4, wykazywały wyższą moc diagnostyczną od testów nieopatentowanych.

Dyskusja obejmująca 19 stron napisana jest w sposób rzeczowy i uporządkowany. W tej części pracy Doktorant wykazała się dużą umiejętnością prawidłowej dyskusji otrzymanych wyników. Mgr Łukasz Supronowicz rzetelnie dokonuje przeglądu fachowego piśmiennictwa, konfrontując wyniki swoich badań z doniesieniami innych autorów, nawet czasem odmiennych od uzyskanych w swojej pracy.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorant sformułował 8 wniosków. Według recenzenta wnioski 4 i 7 są zbyt odważnie sformułowane. W praktyce klinicznej rozpoznanie włóknienia i marskości wątroby wymaga zastosowania dodatkowych badań obrazowych, a nawet czasami są wskazania do przeprowadzenia badania histopatologicznego.

Z obowiązku recenzenta chciałam przedstawić kilka uwag:

1. Doktorant w rozdziale „Materiał i metody” nie wspomina o oznaczaniu CDT jak i transferyny, na podstawie której wylicza się wskaźnik %CDT, a w rozdziale „Wyniki” omawia i analizuje wyniki powyższych badań.
2. W podrozdziale „Obliczenia statystyczne” Doktorant podaje, że dokonał oceny różnic między grupą kontrolną i badaną. W opisie materiału badań brak jest jakichkolwiek informacji dotyczących charakterystyki grupy odniesienia.
3. W kolejnej pozycji „Obliczenia statystyczne” Autor pisze, że do porównania wartości nieinwazyjnych wskaźników pomiędzy chorobami wątroby oraz stopniem zaawansowania marskości w skali Childa-Pugh’a

użyto testu ANOVA. Jednak w pracy brak jest informacji, kto i na podstawie jakich danych laboratoryjnych i klinicznych dokonał kwalifikacji pacjentów w badanej grupie, oraz w dalszej części pracy Doktorant nie odnosi swoich wyników do tej skali.

4. Analizując wyniki badań Doktorant przeprowadził ocenę wartości diagnostycznej wykorzystując krzywe ROC, ale nie podał informacji w jaki sposób podzielił pacjentów na grupę badaną i grupę odniesienia w analizowanych testach. Można się tylko domyślać, iż podzielił pacjentów w oparciu o punkty odcięcia dla poszczególnych testów wzięte z literatury.

5. W tabeli 11. Doktorant nie podał wartości p dla badanych zmiennych.

Ponadto w pracy są liczne błędy edytorskie.

Powyższe uwagi wynikają z obowiązku recenzenta i nie obniżają wartości naukowej przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej

Praca mg Łukasza Supronowicza jest nowatorskim opracowaniem dotyczącym znaczenia diagnostycznego nieinwazyjnych biochemicznych wskaźników: FibroMax, Hepascore oraz wyliczanych algorytmów APRI, GAPRI, FIB-4, Fron's index, AP index, do oceny stopnia stłuszczenia, zapalenia, zwłóknienia i marskości wątroby. Nieinwazyjne markery w zestawieniu z obrazem klinicznym i badaniem obrazowym są cennym uzupełniającym narzędziem do diagnostyki i monitorowania leczenia pacjentów z alkoholową chorobą wątroby. Należy podkreślić, iż oceniana praca wpisuje się w tematykę badawczą realizowaną pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Lecha Chrostka w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.nr 65, poz. 595 z późn.zm.).

Mam zaszczyt przedstawić prośbę Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Łukasza Supronowicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Diagnostyki Biochemicznej
dr hab. Helena Dończyk
profesor nadzwyczajny AM