



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych

Kierownik: Prof. Dr hab. med. Iwona Mozer-Lisewska

ul. Szwajcarska 3
61-285 Poznań

tel. 61 8739376

fax 61 8773687

e-mail: rkaczmar@ump.edu.pl

Poznań, 16.05.2016

*Prof. dr hab. n. med. Arleta Kowala-Piaskowska
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Szwajcarska 3
61-285 Poznań*

**Ocena rozprawy na stopień naukowy doktora nauk medycznych lek. Katarzyny
Fleischer-Stępniewskiej pt. „ Skuteczność pegylowanego interferonu alfa i rybawiryny w
leczeniu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C a obraz morfologiczny i
stan immunologiczny wątroby”**

Odkrycie wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) w 1989 roku daje nam już prawie 30 lat doświadczeń związanych z przebiegiem naturalnym zakażenia, możliwościami i efektami terapeutycznymi, diagnostycznymi czy następstwami infekcji. Problem ogólnoswiatowy jest istotny, gdyż szacunki Światowej Organizacji Zdrowia mówią od lat o około 185 mln zakażonych ludzi, co w efekcie przekłada się na około 250 000 – 350 000 zgonów rocznie z powodu jego następstw. W Polsce od kilku lat trwają dyskusje dotyczące rzeczywistej liczby przypadków, uważa się, że nawet 750 000 osób cierpi z powodu przewlekłego zakażenia HCV. Stąd naturalnymi drogami poszukiwań badaczy jest z jednej strony jak najlepsza, najczulsza i specyficzna diagnostyka, również ta monitorująca chorobę a z drugiej jak najefektywniejsze leczenie. Brak takich działań pociąga za sobą skutki kliniczne, epidemiologiczne oraz ekonomiczne. Najczęstszą drogą zakażenia pozostaje nadal droga krwipochodna, zdecydowanie rzadsza jest droga kontaktów seksualnych czy wertykalna. Mimo istnienia w wielu krajach programów kontroli zakażeń, również w Polsce od lat 90-

tych XX wieku, nadal zdarzają się zakażenia w placówkach medycznych, w tym nierzadko ogniska związane z nieprzestrzeganiem procedur diagnostycznych czy terapeutycznych. Szereg czynników, m. in. brak możliwości swoistej profilaktyki, zmienność genetyczna wirusa, zakażenie utajone, wieloletni przebieg bezobjawowy powodują, że trudno w dniu dzisiejszym mówić o zakażeniu HCV jako o infekcji, nad którą człowiek już panuje. Mimo, że najnowsze leki przeciwwirusowe, tzw. DAAs (direct activ antivirals) cechują się ponad 90% skutecznością, zaczynają się również pojawiać wątpliwości, np. co do powstałych w wyniku ich stosowania mutacji a tym samym dalszych możliwych/dostępnych opcji terapeutycznych.

Od samego początku walki o skuteczną terapię naczelną miejsce zajmował interferon alfa (IFN alfa). Stosowany był w różnych dawkach, przez różny okres, miał różną budowę, był używany w monoterapii lub w połączeniu z lekami hamującymi replikację wirusa. Dzięki takim poszukiwaniom stopniowo wzrastała skuteczność terapii przeciwwirusowej. Stąd obok najnowszych i bardzo skutecznych leków z grupy DAAs, IFN alfa jako immunomodulator nadal, w mniejszym zakresie, ale funkcjonuje wśród leków stosowanych w leczeniu zakażenia HCV.

Szereg dyskusji i badań poświęcono poszukiwaniu czynników prognostycznych dobrej odpowiedzi na leczenie przeciwwirusowe. Rozpatrywane były te, najogólniej mówiąc, zależne od pacjenta oraz od biologii wirusa. Trwały i trwają spory m. in. nad koniecznością czy przydatnością badania patomorfologicznego bioptatu wątroby w obliczu istnienia badań nieinwazyjnych. Zagadnieniu temu również Doktorantka poświęciła znaczną część swojej pracy.

Ocena merytoryczna pracy

Praca oparta jest na badaniach retrospektywnych, a ich celem była analiza skuteczności terapii przewlekłego zapalenia wątroby typu C (pzw C) IFN alfa i RBV oraz ocena morfologicznych i immunohistochemicznych czynników wpływających na powodzenie leczenia.

Wybór podjętej tematyki jest trafny, może dać cenne wskazówki praktyczne dla lekarzy chorób zakaźnych. Przede wszystkim w aspekcie poszukiwania wspomnianych powyżej czynników prognostycznych dobrej odpowiedzi na leczenie. Jednak główne zastrzeżenie budzi analiza zestawu leków, pegylowanego IFN i rybawiryny (RBV), które obecnie nie są już stosowane w podstawowych schematach rekomendowanych przez towarzystwa naukowe, w tym przez Polską Grupę Ekspertów HCV w 2016 roku. Są zalecane w określonych

sytuacjach m. in. u dzieci. Jedynym uzasadnieniem podjętej tematyki jest fakt, że w okresie kiedy Doktorantka otwierała przewód doktorski był to schemat obowiązujący (decyzja Komisji Bioetycznej pochodzi z 2008 roku).

Tytuł jasno sprecyzowany i odpowiada treści zawartej w pracy.

We Wstępie Autorka podaje szereg informacji dotyczących, najogólniej mówiąc, wiedzy związanej z zakażeniem HCV. Wspomina o budowie wirusa, epidemiologii zakażeń na świecie i w Polsce, omawia historię naturalną infekcji, diagnostykę z dokładnym omówieniem zasad i kryteriów oceny patomorfologicznej bioptatu wątroby podając również podział strukturalny na zraziki wątrobowe i gronka, dość znaczącą pozycję zajmuje immunopatogeneza pzw C oraz terapia. Omawia definicje, podziały, dotychczasowe kryteria związane z diagnostyką lub leczeniem. Zwraca uwagę na szereg trudności w ocenie klinicznej i laboratoryjnej związanej z identyfikacją osób zakażonych HCV, na trudności związane z terapią, zarówno na etapie kwalifikacji, działań niepożądanych w trakcie jej trwania aż po skuteczność związaną z eliminacją HCV z surowicy. Czytając Wstęp można zauważyć, że stara się wyeksponować wielokrotnie te zagadnienia, które zajmują Jej główne pole badawcze rozprawy. Czyni to posługując się bardzo sprawnie danymi literaturowymi, zarówno polskimi oraz o zasięgu światowym, pokazując ile jeszcze problemów czeka na rozwiązanie.

Omówienie wielu kwestii spornych, wykazanie ograniczeń na różnych etapach postępowania z chorym, wyeksponowanie obszarów czekających na rozwiązanie świadczy o bardzo dużej wiedzy Autorki z tego zakresu, doświadczeniu klinicysty oraz żarliwości godnej badacza. Jednocześnie widzi niedoskonałości szeregu badań czy informacji. Bardzo logiczne i poprawne, z punktu widzenia metodologicznego, sformułowane są rozdziały wstępu, świadczą też o dobrym przygotowaniu merytorycznym do opracowania podjętego tematu.

Głównym celem pracy była ocena skuteczności leczenia pegylowanym IFN i RBV dotychczas nieleczonych pacjentów z pzw C, z analizą wpływu cech demograficznych i wirusologicznych, analizą klasycznych oraz dodatkowych parametrów patomorfologicznych, również pod kątem ich wpływu na skuteczność i wybór terapii oraz określenie czy immunofenotypowanie komórek odpornościowych oraz ocena aktywności cytotoksycznej *in situ* może być czynnikiem prognostycznym skuteczności terapii. Dzięki uzyskanym wynikom Doktorantka spodziewała się znaleźć kolejne kryteria kwalifikacyjne do leczenia pegylowanym IFN oraz podnieść wartość oceny patomorfologicznej bioptatu wątroby jako przydatną w kwalifikacji do leczenia.

Rozprawa doktorska jest oparta na dokumentacji pochodzącej z Kliniki Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych Uniwersytetu

Medycznego we Wrocławiu. Analizowano dokumentację pochodzącą z 2003-2007 roku. Również ten fakt, a mianowicie analiza dokumentacji sprzed ponad dziesięciu lat, budzi niepokój, chociażby z powodu dostępnych wówczas metod badawczych (badania molekularne)! Być może dlatego w rozdziale Materiał i metody Doktorantka nie podaje czułości metody PCR? Nie budzi zastrzeżeń analiza patomorfologiczna, gdyż oceniany materiał pochodzi z nowych skrojeń bloczka parafinowego.

Badanie przeprowadzono po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej we Wrocławiu w 2008 roku.

Metodyka badań dodatkowych w większości została opisana czytelnie i dokładnie. Szczególne uznanie należy się dla fragmentu rozprawy, w którym Doktorantka omawia badanie histopatologiczne i immunohistochemiczne. Fragment ten jest wzorcowy, napisany bardzo przystępnie, zapewnia wiarygodność wyników, sprawia, że Recenzent jest spokojny o efekty pracy. W opisie badań molekularnych, jak wspomniano wyżej, brak informacji o czułości metody. Podobnie, wykorzystane na potrzeby rozprawy badania laboratoryjne, są bez opisu metody czy wartości referencyjnych. Recenzent rozumie, że była to analiza retrospektywna, a parametry powszechnie stosowane z „grupy podstawowych”, jednak w przypadku trudności z opisem metodyki wystarczyłoby, gdyby Doktorantka o takowych wspomniała. Dotyczy to również badania ultrasonograficznego. Stanowi to pewien dysonans w stosunku do wyżej wymienionego rewelacyjnego opisu metodyki oceny biopsji wątroby. Pewne zastrzeżenia budzi podział na grupy badane. Nie zostało to w jednym miejscu precyzyjnie wypunktowane. Owszem, po przeczytaniu kilku stron rozdziału Materiał i metody oraz Wyniki, można się zorientować, jakich pacjentów podział dotyczy, czym grupy się różnią, ale konieczny byłby opis jednoznaczny na początku 3. Rozdziału. Jasno sprecyzowano kryteria włączenia do badania.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z zastosowaniem odpowiednich oznaczeń i testów, ustalono poziom istotności $\alpha = 0,05$. Do analizy wykorzystano program StatSoft, Inc. (2011) Statistica v. 10, a siłę związków korelacyjnych określano wg kryteriów zalecanych przez STATISTICA PL.

Wyniki badań przedstawione są na 62 stronach rozprawy, obejmują 11 rycin i 37 tabel. Ryciny i tabele są bardzo przejrzyste, wzbogacają pracę, ułatwiają analizę przedstawianych wyników. Do rozprawy Doktorantka dołączyła 30 fotografii stanowiących dokumentację fotograficzną fragmentu rozprawy omawiającego ocenę obrazu morfologicznego wątroby oraz ocenę immunohistochemiczną. Dokumentacja ta niezwykle podnosi wiarygodność i wartość pracy. W rozdziale Wyniki Autorka konsekwentnie analizuje

parametry konieczne do realizacji przedstawionego celu. Zauważa, m. in., że terapia interferonem może być nadal skuteczna u pacjentów z mało zaawansowanymi zmianami w ocenie patomorfologicznej wątroby, osób młodych, mniejsze znaczenie ma w tym przypadku genotyp HCV. Natomiast u pacjentów zakażonych genotypem 1 lub 4 HCV znaczenie dla powodzenia terapii opartej na IFN ma przede wszystkim typ włóknienia (okołokomórkowe i okołozatokowe) oraz zasięg i typ stłuszczenia oraz obecność komórek pamięci limfocytów T (ekspresja CD45RA+ w przestrzeniach wrotnych) wraz z oceną stosunku limfocytów T CD4+ do CD8+.

Ciekawy jest rozdział Ograniczenia pracy, w którym Doktorantka szczerze przedstawia swoje różnej natury wątpliwości. Świadczy to o dużej dojrzałości Autorki i krytycznym spojrzeniu na wyniki własne i innych badaczy.

Wnioski odpowiadają założonym celom pracy, są logiczne i wysnute w oparciu o przeprowadzone badania. Wydaje się jednak, że są zbyt obszerne, jest ich zbyt dużo, a niektóre sformułowania są już truizmem, np. wiremia HCV a SVR, rodzaj EVR a nawrót wirerii.

Ocena metodologiczna pracy

Praca napisana poprawną polszczyzną, o układzie typowym.

Zwraca uwagę staranna szata graficzna. Ryciny bardzo przejrzyste, a tabele czytelne, zbiorczy ich spis ułatwia recenzowanie. Jak wspomniano wyżej bardzo bogata dokumentacja fotograficzna.

Piśmiennictwo dobrane prawidłowo, obejmuje 385 pozycji, w większości obcojęzycznych. Jednak z wielu pozycji można by zrezygnować i ograniczyć liczbę bez szkody dla wartości opracowania.

Rozprawa napisana jest w sposób wskazujący na dużą znajomość i zaangażowanie Autorki w prezentowaną problematykę.

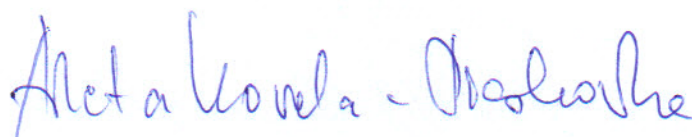
Oceniając rozprawę stwierdzam, że Autorka wykazała staranne przygotowanie do podjętych badań. Przedstawiona praca ma logiczny układ treści a tok postępowania badawczego poprawny.

Praca lek. Katarzyny Fleischer-Stępniewskiej ma dużą wartość naukową i praktyczną przede wszystkim w zakresie analizy histopatologicznej i immunohistochemicznej dla przyszłych pacjentów, u których będzie wskazane również leczenie immunomodulacyjne.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Katarzyny Fleischer-Stępniewskiej pt. „Skuteczność pegylowanego interferonu alfa i rybawiryny w leczeniu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C a obraz morfologiczny i stan immunologiczny wątroby” spełnia wszystkie warunki stawiane tego typu opracowaniom.

Wnoszę, więc do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Katarzynę Fleischer-Stępniewską do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie dla przedstawionej mi do recenzji pracy z uwagi na jej walory poznawcze w zakresie wpływu oceny histopatologicznej biopsji wątroby, a przede wszystkim badania immunohistochemicznego na ewentualne wyodrębnienie kolejnych parametrów prognostycznych dobrej odpowiedzi na leczenie pzw C przy zastosowaniu IFN alfa, nawet, zgodnie z aktualnymi rekomendacjami, dla niewielkiej grupy chorych.



Prof. dr hab. n. med. Arleta Kowala-Piaskowska