

Prof. dr hab. n. med. Anna Liberek
Zakład Pielęgniarstwa Internistyczno-Pediatrycznego
Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa
i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej
Gdański Uniwersytet Medyczny

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Doroty Wicher pt. „Ocena czynności wątroby u pacjentów z autosomalną recesywną wielotorbielowatością nerek”

Rozprawa doktorska lek. Doroty Wicher dotyczy wprowadzie rzadkiego, ale klinicznie istotnego problemu jakim są ciliopatie. Jest to genetycznie uwarunkowana, heterogenna grupa chorób, w których istotą zaburzeń jest nieprawidłowa budowa bądź funkcja rzęsek pierwotnych. W związku z tym, że występują one na powierzchni praktycznie wszystkich komórek człowieka, objawy chorobowe mogą dotyczyć wielu narządów i układów. Narządem najczęściej zajęтым procesem chorobowym są nerki, czego konsekwencją może być przewlekła choroba nerek. Do innych narządów stosunkowo często objętych procesem chorobowym należy wątroba. Patologia w obrębie wątroby i dróg żółciowych wynika z nieprawidłowej budowy rzęsek pierwotnych znajdujących się na komórkach nabłonkowych dróg żółciowych (cholangiocytoch). Spektrum patologii „hepatologicznych” w przebiegu ciliopatii jest szerokie. Do grupy tej zaliczamy m.in. choroba i zespół Carolego, obecność kompleksów von Meyenburga, wrodzone włóknienie wątroby lub izolowane torbiele wątroby. Malformacji płytki przewodowej mogą towarzyszyć również zaburzenia rozwojowe żyły wrotnej.

Najczęściej występującą ciliopatią w wieku rozwojowym jest ARPKD (ang. *autosomal recessive polycystic kidney disease*) - autosomalna recesywna wielotorbielowatość nerek. Choroba jest rezultatem mutacji genu *PKHD1* kodującego fibrocystynę, a głównym miejscem jego ekspresji są nerki, ale proces ten zachodzi także m.in. w wątrobie i pęcherzyku żółciowym. W pierwszych latach życia w obrazie klinicznym dominujące są objawy ze strony nerek, natomiast w okresie późniejszym na pierwszy plan wysuwają się powikłania ze strony wątroby. Należy podkreślić, że włóknienie wątroby ma miejsce u wszystkich chorych z ARPKD już od urodzenia. Jednak przez długi okres nie towarzyszą temu nieprawidłowości w zakresie badań laboratoryjnych oceniających funkcję wątroby (zarówno w zakresie uszkodzenia komórki wątrobowej, czynności wydzielniczej czy syntetycznej). Mimo to choroba wątroby, czyli jej włóknienie, stale postępuje prowadząc w konsekwencji do poważnych powikłań: wzrostu ciśnienia w układzie

wrotnym, hipersplenizmu, żylaków przełyku i/lub żołądka, natomiast zaburzenia budowy dróg żółciowych mogą prowadzić do zastoju żółci i zapalenia dróg żółciowych.

Z powyższych względów uważam, że podjęcie przez lek. Dorotę Wicher badań mających na celu **ocenę czynności wątroby u pacjentów z autosomalną recesywną wielotorbielowatością nerek** jest jak najbardziej uzasadnione i stanowi dojrzałą analizę tego zagadnienia.

Rozprawa doktorska lek. Doroty Wicher jest cyklem spójnych tematycznie czterech publikacji, w tym trzech oryginalnych oraz jednej pogładowej o łącznej punktacji IF -5,268, MNiSW – 230. Należy podkreślić, że cykl publikacji jest optymalną i godną uznania formą rozprawy doktorskiej. Dowodzi bowiem dojrzałości naukowej doktoranta, umiejętności przejścia przez wszystkie etapy związane z przygotowaniem pracy naukowej: planowanie badania, jego przeprowadzenie, wnikliwą analizę otrzymanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu do publikacji. Wcześniejsza publikacja wyników badań Doktorantki w czasopiśmie naukowym, gdzie zostały one oddane procesowi recenzji, stanowi dodatkową gwarancję wartości naukowej prezentowanych badań. Należy podkreślić, że Doktorantka jest pierwszym autorem wszystkich prac stanowiących cykl.

Do rozprawy załączone zostały oświadczenia współautorów publikacji, z których jednoznacznie wynika, że udział Doktorantki w pracach był dominujący.

Przedstawiona do oceny praca cechuje się układem typowym dla rozpraw doktorskich. Została opatrzona spisem treści, streszczeniem w języku polskim i angielskim, Wstępem, w formie przejrzystej przedstawiono hipotezę badawczą oraz cele pracy. Zasadniczą część stanowi wykaz publikacji stanowiących rozprawę dokorską z obszernym ich omówieniem oraz informacja na temat aktywności naukowej Doktorantki i Jej uczestnictwa w tworzeniu międzynarodowego rejestru pacjentów z autosomalną recesywną wielotorbielowatością czego wynikiem było współautorstwo 4 publikacji w wysokopunktowanych czasopiśmie naukowych. Końcowy element rozprawy stanowi podsumowanie i wnioski oraz wykaz piśmiennictwa. Wartościowym elementem rozprawy jest objaśnienie zastosowanych w pracy skrótów, co ułatwia czytającemu na bieżąco identyfikowanie stosowanej w rozprawie terminologii. W rozprawie zostały ponadto umieszczone opinie Komisji Bioetycznej przy IPCZD wyrażające zgodę na przeprowadzenie badań.

We Wstępie Doktorantka szczegółowo przedstawiła etiologię, patogenezę ciliopatii, szczególnie ARPKD oraz patologie związane z nieprawidłową budową/funkcją rzęsek pierwotnych. Szczególny nacisk położyła na przedstawienie możliwych powikłań dotyczących zajęcia przez proces chorobowy wątroby i dróg żółciowych.

Doktorantka w sposób przejrzysty sformułowała hipotezę badawczą oraz cele służące jej weryfikacji. W związku z tym, że w swoich badaniach Doktoranta planowała oceniać czynność wątroby u pacjentów z autosomalną recesywną wielotorbielowatością nerek, w hipotezie badawczej założyła, że „U pacjentów z autosomalną recesywną

wielotorbielowatością nerek (ARPKD) od najmłodszych lat występuje włóknienie wątroby oraz u części z nich obserwuje się również zajęcie/patologię dróg żółciowych. Dlatego chorzy z ARPKD powinni być objęci opieką hepatologiczną z zastosowaniem modelu diagnostyczno-terapeutycznego, uwzględniającego problematykę włóknienia wątroby i jego następstw oraz patologii dróg żółciowych”. Sformułowane precyzyjnie cele badawcze miały służyć zweryfikowaniu założonej hipotezy badawczej.

Jak wspomniano zasadniczą część manuskryptu stanowi wykaz czterech publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej lek. Doroty Wicher z obszernym ich omówieniem.

Publikacje powyższe koncentrują się na zagadnieniach związanych: z charakterystyką autosomalnej recesywnej wielotorbielowatości nerek (ARPKD) z uwzględnieniem zagadnień diagnostycznych (w tym praktycznego zastosowania nowoczesnych metod nieinwazyjnych – elastografia), różnorodnym przebiegiem klinicznym choroby, występowaniem powikłań wynikających z objęcia procesem chorobowym zarówno wątroby jak i dróg żółciowych. Prace te zostały opublikowane w latach 2018-2021. Dwie z nich (oryginalne) zostały opublikowane w czasopismach znajdujących się na liście *Journal of Citation Reports (Frontiers in Pediatrics – IF- 2,634)*, jedna (poglądowa) w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym (*Journal of Pediatric Genetics*). Jedna z prac (oryginalna) w wysoko cenionym i powszechnie dostępnym w środowisku pediatrycznym periodyku *Pediatrics Polska* (w języku angielskim).

Pierwsza praca, poglądowa opublikowana w *Journal of Pediatric Genetics - „Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease – The Clinical Aspects and Diagnostic Challenges”* w oparciu o przegląd piśmiennictwa dotyczącego ARPKD, szczegółowo omawia etiologię, epidemiologię oraz przebieg kliniczny choroby. W pracy przedstawiono kryteria kliniczne, uwzględniane w podejrzeniu ARPKD. Zwrócono uwagę na wartość nowoczesnej diagnostyki molekularnej (sekwencjonowanie następnej generacji ang. *next generation sequencing*, NGS), której wykorzystanie jest niezbędne w procesie różnicowania z innymi jednostkami chorobowymi. Ze względu na zainteresowania Doktorantki, która jest pierwszym autorem publikacji, duży nacisk położono na przedstawienie patologii dotyczącej wątroby i dróg żółciowych w przebiegu tej ciliopatii, podkreślając, że m.in. że włóknienie wątroby (oceniane histopatologicznie) jest stałym elementem ARPKD stwierdzanym już w okresie noworodkowym. Zwrócono również uwagę na konieczność nadzoru onkologicznego w tej grupie chorych. W publikacji przedstawiono także rokowanie oraz dostępne możliwości terapeutyczne (leczenie nerkozastępcze, transplantacyjne oraz próby zastosowania tesewatynibu u dzieci z ARPKD). W podsumowaniu, na podstawie analizy piśmiennictwa, przedstawiono rekomendacje dotyczące postępowania z chorymi z ARPKD.

Należy podkreślić, że omawiana praca stanowi wartościowe kompendium nowoczesnej wiedzy na temat autosomalnej recesywnej wielotorbielowatości nerek (ARPKD), a opublikowanie jej w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym umożliwia dostęp do niej szerokiemu gronu praktyków.

Kolejna praca, oryginalna, opublikowana w *Frontiers in Pediatrics* „Occurrence of portal hypertension and its clinical course in patients with molecularly confirmed Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease (ARPKD)” przedstawia częstość występowania i przebieg nadciśnienia wrotnego u pacjentów z ARPKD. Wszechstronnej analizie poddano grupę 17 chorych w wieku od 2,5 do 42 lat (średni wiek 17,6 lat) z potwierdzoną metodami genetycznymi (mutacja na obu allelach genu *PKHD1*) chorobą. Na podstawie badania podmiotowego i przedmiotowego oraz badań: laboratoryjnych, obrazowych – ultrasonografia i elastografia oraz badania endoskopowego górnego odcinka przewodu pokarmowego oceniano częstość występowania oraz powikłania nadciśnienia wrotnego. Przeprowadzona analiza wykazała, że nadciśnienie wrotne rozwija się u znacznego odsetka pacjentów z ARPKD, a jego objawy mogą być stwierdzane już w pierwszych latach życia. Podkreślono, że postępowanie profilaktyczno-terapeutyczne może zmniejszać częstość zagrażających życiu powikłań. Wykazano także, że skuteczność zabiegów endoskopowych w profilaktyce krwawienia z przewodu pokarmowego w badanej grupie chorych z nadciśnieniem wrotnym w przebiegu ARPKD była wysoka. Nie wykazano natomiast znamiennej zależności między molekularnym wariantem genu *PKHD1*, a częstością występowania nadciśnienia wrotnego w analizowanej grupie chorych. Być może wynika to ze zbyt małej liczebności badanej grupy. Interesująca byłaby analiza powyższego zagadnienia w oparciu o badania wielośrodkowe. Pozwoliłaby być może na wytypowanie chorych obarczonych szczególnym ryzykiem wystąpienia nadciśnienia wrotnego i podjęcie odpowiednich działań profilaktycznych.

W kolejnej pracy oryginalnej opublikowanej w *Frontiers in Pediatrics* – „Transient Elastography for Detection of Liver Fibrosis in Children With Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease”, analizowano przydatność elastografii dynamicznej wątroby przy użyciu kontrolowanego impulsu mechanicznego (FibroScan®) w ocenie nasilenia włóknienia wątroby i jego powikłań u pacjentów z ARPKD. Włóknienie wątroby jest stałym i postępującym objawem ARPKD. Nadal podstawowym badaniem w diagnostyce włóknienia wątroby jest biopsja igłowa tego narządu i ocena histopatologiczna wycinka wątroby. Jest to jednak badanie inwazyjne obarczone powikłaniami szczególnie u pacjentów z nasilonym włóknieniem wątroby. W związku z tym badania Doktorantki doskonale wpisują się w trend poszukiwania bezpiecznych, nieinwazyjnych, a jednocześnie wiarygodnych metod oceny stopnia włóknienia wątroby. Jedną z takich metod jest przedstawiona i analizowana w cytowanej pracy elastografia dynamiczna wątroby. Badaniami objęto grupę 21 dzieci klinicznym rozpoznaniem ARPKD, (u 60% z nich na podstawie badania endoskopowego górnego odcinka przewodu pokarmowego stwierdzono obecność żylaków przełyku) natomiast grupę kontrolną stanowiło 20 pacjentów pediatrycznych, u których na podstawie badania podmiotowego i przedmiotowego oraz badań dodatkowych nie stwierdzono cech choroby wątroby i dróg żółciowych. Wykazano, że pomiary sztywności wątroby były istotnie statystycznie wyższe w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto wykazano, że jedynie u pacjentów z bardziej nasilonym włóknieniem wątroby ocenianym na podstawie elastografii (>6,9 kPa) obserwowano splenomegalię, trombocytopenię, żylaki przełyku. Doktorantka słusznie

zauważa, że takie patologie wątroby jak stłuszczenie czy zapalenie mogą wpływać na stopień sztywności wątroby. Jednak w przebiegu włóknienia wątroby u chorych z ARPKD nie rozwija się stłuszczenie czy zapalenie narządu co pozwala na stwierdzenie, że wynik elastografii dynamicznej u tych chorych dobrze koreluje z nasileniem włóknienia. Autorzy podkreślają również, że bardzo wartościowa byłaby możliwość skorelowania wyniku elastografii dynamicznej z oceną włóknienia wątroby stwierdzoną na podstawie badania histopatologicznego wycinka wątroby. Jednak nie jest to badanie rutynowo wykonywane w tej grupie chorych.

W podsumowaniu słusznie stwierdzono, „że elastografia dynamiczna wątroby przy użyciu kontrolowanego impulsu mechanicznego (FibroScan®) może być wartościową, nieinwazyjną metodą wykrywania i monitorowania włóknienia wątroby u pediatrycznych pacjentów z ARPKD. Nieprawidłowy wynik elastografii dynamicznej wątroby jest kolejnym markerem, obok cech hipersplenizmu i zwolnionego przepływu wrotnego w badaniu doplerowskim, wskazującym na konieczność rozpoczęcia nadzoru endoskopowego u pacjenta z cechami zajęcia wątroby w przebiegu ARPKD”. Należy ponadto podkreślić, że także na podstawie „przesiewowego” badania ultrasonograficznego jamy brzusznej aż u 76% analizowanych chorych wykazano zwiększoną echogeniczność wątroby, u 52% hepatomegalię, poszerzeniu dróg żółciowych u 24%, a u 10% torbiele wątroby. Powyższa obserwacja potwierdza konieczność wnikliwej diagnostyki w kierunku chorób wątroby i dróg żółciowych u pacjentów z ARPKD.

Celem ostatniej z omawianych prac (oryginalnej) opublikowanej w *Pediatric Polish Journal*, „*Abnormalities of the biliary tract in patients with autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD)*”, była ocena częstości i rodzaju patologii w obrębie dróg żółciowych u pacjentów z ARPKD i ich konsekwencje kliniczne. Pod tym kątem analizie poddano tę samą grupę 17 pacjentów z molekularnie potwierdzonym rozpoznaniem ARPKD, u których badano częstość występowania i przebieg nadciśnienia wrotnego. Retrospektywnie analizowano wyniki badań laboratoryjnych oceniających cholestazę oraz obrazowych (poszerzenie wewnątrzwątrobowych i zewnątrzwątrobowych dróg żółciowych, obecność torbieli dróg żółciowych), a także informacje o przebytych zakażeniach dróg żółciowych. Z parametrów biochemicznych oceniających cholestazę nieznacznie zwiększona aktywność GGTP była stwierdzana u 7/17 chorych, natomiast u wszystkich badanych, u których oceniano stężenie kwasów żółciowych ten parametr był nieprawidłowy. Niestety mimo, iż jest to najbardziej czuły i niejednokrotnie jedyny marker cholestazy (np. w cholestazach wewnątrzwątrobowych z niską aktywnością GGTP) badanie wykonano jedynie u 3 z 17 pacjentów (ok. 17%). Publikacja pochodzi z 2020 roku, czyli z okresu gdy dostęp do oznaczania stężenia kwasów żółciowych był powszechny i powszechna była również wiedza o wartości tego parametru w definiowaniu cholestazy. Jednak być może dane retrospektywne, które poddano analizie pochodziły z okresu znacznie wcześniejszego. W publikacji nie zamieszczono informacji na ten temat. Znacznie częściej niż w badaniach laboratoryjnych cechy wskazujące na patologię w obrębie dróg żółciowych znajdowano w badaniach obrazowych - poszerzenie wewnątrzwątrobowych

dróg żółciowych stwierdzono u 10/17 pacjentów, zewnątrzwątrobowych (przewód żółciowy wspólny) u 5/17, torbielowate poszerzenie dróg żółciowych/zespół Carolego u 2/17 pacjentów, natomiast torbiele wątroby opisano u 6 osób. Podstawowym badaniem obrazowym, które wykonano w analizowanej grupie pacjentów z ARPKD była ultrasonografia jamy brzusznej (17/17), zarówno badanie tomokomputerowe i scyntygraficzne wykonano u 4/17 chorych natomiast MRCP jedynie u 2/17 pacjentów. W związku z tym faktyczna częstość występowania poszerzenia dróg żółciowych w badanej grupie może być niedoszacowana. Podobnie jak w przypadku braku oceny w surowicy stężenia kwasów żółciowych, być może fakt, że także i w tym przypadku analiza oparta była głównie, a w niektórych przypadkach wyłącznie na badaniu ultrasonograficznym, wynika z retrospektywnego charakteru pracy i mniejszej dostępności w tym okresie do bardziej szczegółowej diagnostyki obrazowej (przede wszystkim cholangiografia rezonansu magnetycznego). W publikacji nie zamieszczono jednak informacji z jakiego okresu pochodzą wynik badań. Należy jednak podkreślić fakt, że mimo iż obserwacje powyższe dotyczą jedynie nielicznej grupy chorych z ARPKD, przeprowadzona analiza podkreśla konieczność dokładnej oceny dróg żółciowych w tej grupie chorych. Wykrycie bowiem patologii w obrębie dróg żółciowych może mieć istotne implikacje kliniczne (leczenie przeszczepowe, profilaktyka zakażenia dróg żółciowych, regularne monitorowanie markerów onkologicznych).

Kolejną częścią rozprawy jest Podsumowanie oraz Wnioski, w której Doktoranta krótko omawia powikłania występujące u pacjentów z ARPKD. Cenna jest zawarta w tej części pracy informacja o ograniczeniach z jakimi spotkała się w ramach realizacji powyższych badań. Dotyczy to głównie małej liczebności analizowanej grupy chorych z ARPKD, która jest rezultatem faktu, iż schorzenie to zaliczane jest do tzw „chorób rzadkich” oraz wysokich kosztów i ograniczonej dostępności do badań molekularnych.

Staranna analiza wyników przeprowadzonych badań oraz danych dostępnych z piśmiennictwa pozwoliła na sformułowanie Wniosków pozwalających na zweryfikowanie Hipotezy badawczej oraz będących odpowiedzią na postawione cele badawcze.

Piśmiennictwo przedstawione w rozprawie zawiera 26 pozycji anglojęzycznych, praktycznie wszystkie pochodzące z ostatnich 10 lat. Ponadto w każdej z publikacji będących podstawą cyklu prac zamieszczono aktualne, nowoczesne piśmiennictwo dotyczące omawianych zagadnień.

Należy podkreślić, że problematyka przeprowadzonych przez Autorkę badań dostarczyła ważnych danych na temat oceny czynności wątroby u pacjentów z autosomalną recesywną wielotorbielowatością nerek. Spostrzeżenia te mogą być wykorzystane przy formułowaniu wytycznych dotyczących kompleksowego postępowania z chorymi z ARPKD.

Poczynione uwagi, nie wpływają na kompleksową, jednoznacznie pozytywną ocenę pracy zarówno pod względem merytorycznym, jak i redakcyjnym.

W podsumowaniu, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Doroty Wicher pt. „**Ocena czynności wątroby u pacjentów z autosomalną recesywną wielotorbielowatością nerek**”, będąca cyklem prac opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, spełnia wymagania stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora nauk medycznych określonym w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz § 6 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 13 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzenia czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz postępowaniu o nadanie tytułu profesora.

W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka o dopuszczenie lek. Doroty Wicher do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. n. med. Anna Liberek