



# Warszawski Uniwersytet Medyczny

## Klinika Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych

02-006 WARSZAWA ul. Nowogrodzka 59, tel. (22) 502 16 31, fax (22) 502 21 26

Kierownik:

Prof. dr hab. med. Magdalena Durlik

e-mail: [mdurlik@wum.edu.pl](mailto:mdurlik@wum.edu.pl)

Warszawa, 2023-06-12

Dr hab. n. med. Jolanta Gozdowska  
Klinika Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych  
Warszawski Uniwersytet Medyczny  
[jolanta.gozdowska@wum.edu.pl](mailto:jolanta.gozdowska@wum.edu.pl)

### RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

lek. Aleksandra Musiała

### **Biomarkery ogniskowego i segmentalnego kłębuszkowego zapalenia nerek (FSGS) w optymalnej strategii diagnostyczno-terapeutycznej**

Promotorzy:

dr hab. n. med. Dorota Kamińska

dr hab. n. med. Piotr Donizy, prof. UMW

Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków (FSGS, ang. *focal segmental glomerulosclerosis*) to grupa nefropatii, których wspólną cechą jest wyjściowe uszkodzenie podocytów (tzw. podocytopatie), z ogniskową i segmentalną sklerotyzacją pętli włosniczki kłębuszków nerkowych o niejednakowym przebiegu klinicznym i różnym rokowaniu. Obecny podział poszczególnych typów FSGS według *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* z 2021 roku wyróżnia FSGS pierwotny, wtórny, uwarunkowany genetycznie oraz o nieustalonej etiologii.

Etiologia pierwotnego FSGS nadal nie jest ustalona. Przypuszcza się, że za powstanie choroby odpowiadają rozpuszczalne, niezidentyfikowane czynniki, które prowadzą do uszkodzenia podocytów z zatarciem wyrostków stopowatych podocytów i białkomoczem. Antygeny zlokalizowane na podocytach mogą odgrywać kluczową rolę w inicjacji i progresji zmian obserwowanych w FSGS.

Wtórny FSGS rozpoznawany jest częściej niż pierwotny, a jego przyczyną są zmiany adaptacyjne związane z hiperfiltracją kłębuszków nerkowych lub uszkodzenia podocytów wywołane przez toksyczność leków, zespół hemofagocytowy lub zakażenia wirusowe. We wtórnych typach FSGS częściej obserwuje się zespół nefrytyczny.

Różnorodność biomarkerów i ich oddziaływanie (immunomodulacja, modyfikacja ekspresji genów, udział w procesie stresu oksydacyjnego lub przebudowie macierzy komórkowej)

wskazuje, że uszkodzenie podocytów jest wynikiem wielu równoległych heterogenicznych procesów metabolicznych. Lepsze zrozumienie patogenezy FSGS oraz roli różnych cząsteczek w patologii uszkodzenia podocytów może prowadzić do wdrożenia terapii ukierunkowanej na przyczynę.

#### Ocena formalna rozprawy

Oceniana dysertacja została wykonana w Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu w oparciu o materiał uzyskany z jednego ośrodka nefrologicznego mieszczącego się w Uniwersyteckim **Szpitalu** Klinicznym. Praca ma charakter retrospektywny.

Rozprawę rozpoczyna wykaz skrótów, które zostały rozwinięte w języku polskim i angielskim. Następnie umieszczono spis treści obejmujący jedenaście pozycji. Zgodnie ze spisem treści pozycją numer jeden jest wstęp składający się z sześciu części z dalszymi podziałami i obejmuje 15 stron. W rozdziale tym Doktorantka dokonała wnikliwej oceny piśmiennictwa dotyczącego podziału, etiologii, obrazu histopatologicznego, przebiegu klinicznego, leczenia oraz biomarkerów i ich roli w diagnostyce FSGS.

W dalszej kolejności Doktorantka przedstawiła cel badania: zbadanie przydatności wybranych biomarkerów ogniskowego i segmentalnego kłębuszkowego zapalenia nerek (FSGS) w optymalnej strategii diagnostyczno-terapeutycznej tego rodzaju kłębuszkowego zapalenia nerek. Szczegółowa analiza obejmowała określenie czynników klinicznych i parametrów histopatologicznych prognozujących przebieg kliniczny pierwotnego i wtórnego FSGS a także określenie znaczenia ekspresji tkankowej polimerazy poli(ADP-rybozy) 1 (PARP-1) oraz 2,3-dioksygenazy indolaminy (IDO-1) dla prognozowania progresji niewydolności nerek oraz różnicowania pomiędzy pierwotnym a wtórnym FSGS. Ponadto przeanalizowana została zależność pomiędzy ekspresją tkankową PARP-1 i IDO-1 oraz parametrami oceny histopatologicznej biopsji nerek a nasileniem białkomoczu oraz czynnością nerek w okresie biopsji.

Do badania zostało włączonych 52 pacjentów pozostający pod opieką Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu z potwierdzonym histopatologicznie uszkodzeniem kłębuszków o typie FSGS. Na podstawie wyniku badania histopatologicznego biopsji nerki, przebiegu choroby, informacji uzyskanych z wywiadu oraz po ewentualnym ustaleniu wtórnej przyczyny glomerulopatii, pacjentów podzielono na dwie grupy: z pierwotnym i wtórnym FSGS. Analizie poddano dane kliniczne, w tym przebieg choroby oraz sposób leczenia chorych, wyniki badań laboratoryjnych, wyniki oceny histopatologicznej biopsji tkanki nerkowej a także wyniki wykonanych badań immunohistochemicznych oraz oceny immunopatologicznej ekspresji PARP-1 i IDO-1 w biopsjach.

Badanie immunohistochemiczne oceniające ekspresję PARP-1 i IDO-1 zostało wykonane z archiwalnych bloków parafinowych zawierających materiał tkankowy uzyskanych poprzez wykonanie biopsji nerek. Wyniki ekspresji PARP-1 i IDO-1 oraz parametry histopatologiczne biopsji nerek zostały przeanalizowane w odniesieniu do danych demograficznych oraz klinicznych, w tym wykładników postępu przewlekłej choroby nerek w przebiegu FSGS.

Uzyskane wyniki badań oceniono przy użyciu dobrze dobranych metod statystycznych. Wyniki te zostały przedstawione w sposób wyjątkowo dobrze przemyślany. Tabele i ryciny starannie porządkują przedstawione dane i ułatwiają ich analizę. Pozwoliło to na sformułowanie pięciu kluczowych wniosków:

1. IDO-1 i PARP-1 biorą udział w procesach prowadzących do progresji do schyłkowej niewydolności nerek u pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS.
2. Ekspresja tkankowa IDO-1 i PARP-1 nie jest przydatna w różnicowaniu pierwotnego i wtórnego FSGS.

3. Zarówno ekspresja IDO-1, jak i PARP-1, oraz poszczególne parametry oceny histopatologicznej biopsji nerek nie mają związku z nasileniem białkomoczu w okresie biopsji.
4. Stężenie kreatyniny w surowicy krwi w czasie biopsji, nasilenie białkomoczu, odsetek kłębuszków ze sklerotyzacją powyżej 50%, nasilone włóknienia śródmiąższu i zanik cewek nerkowych, występowanie śródmiąższowego nacieku zapalnego, wtórny typ FSGS oraz ekspresja PARP-1 i IDO-1 w nacieku zapalnym w śródmiąższu mają istotny wpływ na wystąpienie schyłkowej niewydolności w długotrwałej obserwacji.
5. Upośledzona czynność nerek w czasie biopsji jest związana z wyższym odsetkiem kłębuszków ze sklerotyzacją, odsetkiem powierzchni śródmiąższu objętej włóknieniem i zanikiem cewek nerkowych oraz obecnością zapalenia cewkowo-śródmiąższowego (TIN) i arteriolosklerozy

W dalszej części rozprawy doktorskiej umieszczono streszczenie w języku polskim oraz angielskim, spis tabel (31), spis rycin (17) oraz bibliografię, która obejmuje 147 pozycji, w tym 87 z ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo jest dobrze dobrane i właściwie cytowane.

Z obowiązku recenzenta zamieszczam uwagi:

Nr 1.

Wyniki (Rozdział 4)

Charakterystyka demograficzna i kliniczna grupy badanej (podrozdział 4.1; strona 30)

- funkcja nerek oceniana jest wartością stężenia kreatyniny, gdy tymczasem zakres referencyjny jest różny dla kobiet i mężczyzn (K: 0,70-1,10; M: 0,80-1,30),
- w ocenie recenzenta warto oceniać funkcję nerek wyliczoną wg wzorów matematycznych eGFR uwzględniającym płeć,
- w tym samym podrozdziale wymienione są autoprzeciwciała, w tym anty-ANA. Powinno być ANA (są to bowiem przeciwciała przeciwjądrowe).

Nr 2.

Leczenie (Podrozdział 4.2; strona 35)

- Doktorantka napisała: Analizując stan kliniczny pacjentów w okresie, w którym wykonana została biopsja nerki, odsetek pacjentów z upośledzeniem czynności nerek ( $sCr > 1,3$  mg/dl) nie różnił się istotnie pomiędzy grupą pacjentów z pierwotnym i wtórnym FSGS ( $p=0,087$ )
- W ocenie recenzenta bardziej precyzyjną byłaby wartość eGFR, która jest umieszczona w tabeli 4-2. Istotność statystyczna dla tych parametrów (stężenia kreatyniny oraz eGFR) jest porównywalna i nie wpływa na interpretację uzyskanych wyników.

Nr 3.

Ocena stanu klinicznego pacjentów po roku od biopsji. (Podrozdział 4.14.1; Strona 62)

- Doktorantka napisała: Po roku obserwacji białkomocz subnerczycowy stwierdzono u 17 pacjentów: u 12 z 22 chorych z pierwotnym FSGS i u 5 z wtórnym FSGS. Białkomocz nerczycowy był stwierdzony u 4 osób wyłącznie w grupie chorych z pierwotnym FSGS.
- W ocenie recenzenta dla przejrzystości wyników warto dodatkowo podawać wynik w procentach (%)

Nr 4.

Inne uwagi:

Zamieszczono ryciny ze zdjęciami obrazu mikroskopowego biopsji z interpretacją obrazu, brak jednak informacji o metodzie barwienia.


Wyżej wymienione uwagi nie wpływają na wartość merytoryczną i naukową pracy doktorskiej ani pozytywną ocenę całej pracy.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi oryginalne dokonanie Doktorantki, lek. Aleksandry Musiały i świadczy o jej dojrzałości naukowej i klinicznej oraz o

opaniu warsztatu pracy naukowej, wymaganym od kandydatki na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Wyniki badań Doktorantki poszerzają naszą wiedzę na temat ogniskowego i segmentalnego kłębuszkowego zapalenia nerek (FSGS) i mogą stanowić doskonały wstęp do dalszych badań, oceniających inne biomarkery w optymalnej strategii diagnostyczno-terapeutycznej tej niejednorodnej choroby nerek. Praca ze względu na wysoką wartość naukową zasługuje na jej opublikowanie.

Doktorantka podjęła ważny z punktu widzenia naukowego ale i klinicznego temat badawczy, sformułowała interesujące cele pracy, zastosowała właściwe metody umożliwiające ich realizację oraz wykazała umiejętność wszechstronnej analizy uzyskanych wyników w świetle aktualnej wiedzy i właściwego wnioskowania. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1688).

Mam zaszczyt i przyjemność zwrócić się do Wysokiej Rady Naukowej Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego z prośbą o dopuszczenie lek. Doktorantki lek. Aleksandry Musiały do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

  
dr hab. n. med. JOLANTA GOZDOWSKA  
lekarz specjalista  
chorób wewnętrznych  
nefrologii  
transplantologii klinicznej  
6719793