



Dr hab. n. med.
Ilona Idasiak-Piechocka
Katedra i Klinika Nefrologii,
Transplantologii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Poznań, dnia 23 czerwca 2023 roku

Woli 29.06.2023

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
Zastępca przewodniczącego
M. Podhorska-Okołów

prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. Ewelina Jadwiga Olczyk

pt. „Diagnostyczna i rokownicza wartość nowych biomarkerów w nefropatii IgA,,

Zgodnie z powołaniem mnie na recenzenta przez Radę Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu mam zaszczyt przedstawić opinię powyższej rozprawy.

Nefropatia IgA jest najczęstszą postacią pierwotnego kłębuszkowego zapalenia nerek na świecie. W około 40% przypadków obserwuje się jej progresję w kierunku schyłkowej niewydolności po około 20-30 latach. Obraz kliniczny i przebieg choroby jest różnorodny, od bezobjawowej mikroskopowej erytrocyturii, poprzez krwimocz, białkomocz, do gwałtownie postępującego spadku filtracji kłębuszkowej. Wczesne rozpoznanie i identyfikacja chorych z potencjałem szybkiej progresji choroby jest kluczowe dla rokowania. Biopsja nerki jest złotym standardem rozpoznania i oceny aktywności choroby jednak ze względu na fakt, że jest to procedura inwazyjna nie może być często powtarzana. Ponadto zmiany patologiczne w biopsji różnią się w zależności od czasu jej wykonania w przebiegu choroby i nie zawsze pozwalają na uzyskanie rozstrzygających wniosków, co do dalszego przebiegu choroby, decyzji terapeutycznych i rokowania. Dlatego, nowe nieinwazyjne biomarkery oceniające aktywność choroby w określonym czasie są niezwykle potrzebne i poszukiwane. Wielkość białkomoczu jest ważnym czynnikiem prognostycznym w przebiegu nefropatii IgA i wiele badań klinicznych wykorzystywało białkomocz i wielkość filtracji kłębuszkowej jako końcowe punkty nerkowe. Jednak często trudno jest odróżnić czy nasilenie białkomoczu wiąże się z aktywnym stanem zapalnym, obecnością komórkowych półksiężyców, czy nasilonym twardnieniem kłębuszków nerkowych i przewlekłym charakterem zmian w przebiegu nefropatii IgA.

Biorąc pod uwagę powyższe rozważania podjęty przez lek. Ewelinę Jadwigę Olczyk temat dotyczący oceny diagnostycznej i rokowniczej wartości nowych biomarkerów w nefropatii IgA wpisuje się doskonale w zapotrzebowanie, co do poszukiwania innych, niż

biopsja nerki, czy badanie osadu moczu i białkomoczu, nieinwazyjnych powtarzalnych wskaźników wczesnego rozpoznania i oceny aktywności choroby. Mimo, że omawiana jednostka chorobowa opisana była po raz pierwszy w 1968 nadal nie udało się wyodrębnić biomarkerów, które mogłyby spełnić oczekiwania i zastąpić złoty standard jakim pozostaje biopsja nerki. Wobec tych faktów, wybrany przez Doktorantkę temat stanowi duże wyzwanie, a analiza nowych biomarkerów ma charakter nowatorski w kontekście przedstawionej jednostki chorobowej.

Celem głównym pracy była ocena przydatności oznaczeń ekspresji i/lub stężenia wybranych biomarkerów do rozpoznania, oceny aktywności i przewidywania przebiegu przewlekłej choroby nerek w grupie chorych leczonych z powodu nefropatii IgA.

Cele szczegółowe pracy zostały jasno sformułowane i konsekwentnie zrealizowane. Niezwykle istotne i cenne jest uwzględnienie w celach szczegółowych analizy nie tylko ekspresji wybranych markerów ale również ich stężeń w surowicy i moczu oraz ich zmienności zależnej od zmian histopatologicznych w biopsjach nerek i stosowanego leczenia.

Przedstawiona do oceny praca rozmieszczona jest na 76 stronach, ma układ typowy dla rozpraw doktorskich i zawiera 12 rozdziałów, wykaz stosowanych skrótów i liczące 123 pozycje piśmiennictwo.

We wstępie, który liczy 13 stron, Autorka szczegółowo i profesjonalnie przedstawia przyczyny i patogenezę nefropatii IgA oraz umiejętnie uzasadnia trafność podjętego tematu i wybór nowych biomarkerów. Charakteryzuje też obraz kliniczny choroby, kryteria histopatologiczne oraz zgodnie z najnowszymi rekomendacjami opisuje metody leczenia zarówno immunosupresyjnego jak i wspomagającego.

Grupę badaną stanowiło 48 pacjentów powyżej 18 roku życia w tym 19 kobiet i 29 mężczyzn z potwierdzoną biopsyjnie nefropatią IgA. Leczenie immunosupresyjne otrzymywało 38 chorych, u 3 chorych nie włączono farmakoterapii, a u 7 zastosowano tylko leczenie nefroprotecyjne. Średni czas od momentu wykonania biopsji do momentu włączenia do badania to $26,4 \pm 35,0$ miesięcy. Materiał jest właściwie scharakteryzowany i zróżnicowany, a kryteria kwalifikacji chorych jasne i poprawnie sformułowane (Tabele 1-4). Niezwykle trafny i nowatorski jest sam dobór biomarkerów, które odgrywają kluczową rolę w patogenezie nefropatii IgA, takich jak niedogalaktozylowana cząteczka immunoglobuliny IgA1 (Gd-IgA1) oraz cząteczki z którymi oddziałuje takie jak receptor CD89, transferyna 1 (CD71) czy transglutaminaza 2 (TG2), które uczestniczą w pobudzeniu

komórek mezangium i reakcji zapalnej prowadzącej do uszkodzenia nerek. Wyjątkowo cenne jest uwzględnienie jednocześnie zarówno oceny ekspresji CD89 na wybranych komórkach obwodowych krwi oraz stężenia jej rozpuszczalnej cząsteczki i wybranych biomarkerów w surowicy i moczu. Metodologia badań i opisane techniki badawcze są nowoczesne, prawidłowo dobrane, zgodne ze współczesnymi standardami, zilustrowane (rycina 1 i 2) i opisane szczegółowo. Zwraca jedynie uwagę fakt, stosunkowo długiego czasu od momentu wykonania biopsji nerki do chwili kwalifikacji do badań, mediana 10 m-cy co może utrudniać ocenę i interpretację ewentualnych korelacji biomarkerów z obrazem histopatologicznym nerek. Ważnym dopełnieniem badań jest dodatkowa analiza wyników badań biochemicznych takich jak: morfologia krwi, stężenie kreatyniny, białka całkowitego i albumin w surowicy oraz badanie ogólne moczu, szacunkowy białkomocz dobowy i stężenie kreatyniny w moczu. Wskaźnik eGFR wyliczono wg uproszczonego wzoru MDRD i zastosowano kryteria podziału przewlekłej choroby nerek zgodnie z wytycznymi KDIGO 2021. Podkreślić należy, że dane kliniczne chorych analizowano zarówno w okresie okołobiopsyjnym, korelując z obrazem histopatologicznym jak i później po włączeniu do badania. Cenna jest też ocena demograficzna obejmująca wiek i płeć pacjentów oraz ocena przebiegu klinicznego w okresie od wykonania biopsji do utraty czynności nerek lub końca obserwacji w badaniu to jest od 2 do 154 miesięcy. Dużym atutem pracy i jej elementem nowatorskim jest ocena wpływu leczenia immunosupresyjnego na badane biomarkery.

Zastosowane w analizie metody statyczne są adekwatne i nie budzą zastrzeżeń.

Wyniki badań, które są bardzo starannie opracowane, przedstawiono szczegółowo i zilustrowano w tabelach (5-17) oraz na rycinach (ryciny 3 i 4). Podkreślenia wymaga fakt bardzo dokładnego, umiejętnego i przejrzystego opracowania przez Doktorantkę wyników.

Doktorantka wykazała istotnie wyższe stężenie sCD89 w surowicy i wyższe stężenia CD89 i CD71 w moczu chorych w porównaniu z grupą kontrolną. Równocześnie stwierdziła istotne statystycznie ujemne korelacje pomiędzy stężeniem białka całkowitego a stężeniem sCD89 w surowicy krwi, a także stężeniami CD89 oraz CD71 w moczu. Z punktu widzenia klinicznego szczególne znaczenie ma wykazanie dodatnich korelacji między stężeniami CD89 i CD71 w moczu z nasileniem białkomoczu, co pozwala na wykorzystanie tych biomarkerów w ocenie aktywności choroby. Nie stwierdzono natomiast istotnych statystycznie różnic w poziomie ekspresji CD89 na neutrofilach i monocytach krwi obwodowej pomiędzy grupą badaną i grupą kontrolną. Doktorantka analizowała też zależność pomiędzy ekspresją i/lub stężeniem badanych biomarkerów, a zmianami histopatologicznymi w biopsjach nerek i nie

wykazała zależności. Jednak należy podkreślić, że ocena tych zależności może być obarczona błędem, gdyż badanie biomarkerów nie było wykonane w okresie okołobiopsyjnym, a średni czas od wykonania biopsji do oceny biomarkerów wynosił $26,4 \pm 35,0$ miesięcy. Ważnym i niezwykle cennym uzupełnieniem tej analizy jest przeprowadzenie długofalowej obserwacji zmian czynności nerek od momentu wykonania biopsji do utraty czynności nerek lub zakończenia obserwacji, mediana czasu obserwacji 44,5 miesięcy. Stwierdzono niekorzystny wpływ obecności zmian nieodwracalnych w badaniu histopatologicznym na częstość i ryzyko występowania pogorszenia funkcji nerek do wielkości $GFR < 30 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Nowatorskim i ciekawym elementem badań jest ocena wpływu leczenia glikokortykosteroidami (GKS) na badane biomarkery ze szczególnym wskazaniem na stężenie CD89 w moczu. Doktorantka wykazała u chorych leczonych GKS nie tylko zmniejszenie stężenia Gd-IgA1w surowicy co opisywano wcześniej w literaturze ale i zmniejszenie stężenia CD89 w moczu w porównaniu z chorymi nie leczonymi GKS czego nie opisywano jak dotąd w dostępnej literaturze.

W omówieniu Doktorantka w sposób umiejętny, świadczący o znajomości tematu i doskonałej orientacji w analizowanych zagadnieniach dyskutuje swoje wyniki badań i różnice z doniesieniami z piśmiennictwa.

Prezentowane wnioski w liczbie 7 odpowiadają zaplanowanym celom pracy i są silną podstawą dla kontynuacji badań ze względu na ich dużą potencjalną przydatność kliniczną i diagnostyczną. Doktorantka słusznie wskazuje, że badane biomarkery są obiecującymi wskaźnikami do rozpoznania ale i monitorowania przebiegu nefropatii IgA .

Piśmiennictwo w liczbie 123 pozycji jest właściwie dobrane i aktualne.

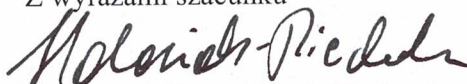
W podsumowaniu należy podkreślić, że praca napisana jest z niezwykłą starannością i cechuje się dużą estetyką wykonania. Przedstawioną rozprawę doktorską i podjęty przez Doktorantkę temat oceniam bardzo wysoko, zarówno z punktu widzenia naukowego jak i klinicznego. Podkreślenia wymaga fakt, że uzyskane wyniki przekładają się bezpośrednio na praktykę kliniczną i mogą być podstawą do wprowadzenia wybranych przez Doktorantkę biomarkerów do panelu badań diagnostycznych nefropatii IgA. Zaprezentowane wyniki badań ze względu na ogromną przydatność kliniczną i diagnostyczną stanowią też silną podstawą dla ich kontynuacji, poszukiwania wartości predykcyjnych biomarkerów, bezpośrednich korelacji ze zmianami histopatologicznymi, aktywnością choroby i skutecznością terapii. Ponadto monitorowanie zmienności tych biomarkerów w przebiegu choroby i stosowanego leczenia może być cennym narzędziem dla nefrologa przy

podejmowaniu trudnych decyzji terapeutycznych, co do konieczności kontynuacji czy zaprzestania leczenia immunosupresyjnego, które związane jest z ryzykiem licznych działań ubocznych wpływających na przebieg przewlekłej choroby nerek i rokowanie.

Wobec przedstawionej analizy i podsumowania stwierdzam, że praca lek. Eweliny Jadwigi Olczyk w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk medycznych. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.Nr 65, poz.959, z późn. Zm.), dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje też do Wysokiej Rady o przyznanie wyróżnienia dla przedstawionej rozprawy doktorskiej.

Z wyrazami szacunku


dr hab. n. med. Ilona Idasiak-Piechocka