



UNIwersytet MEDYCZNY w BIAŁYMSTOKU

I KLINIKA NEFROLOGII I TRANSPLANTOLOGII Z
OŚRODKIEM DIALIZ

15-540 Białystok, ul. Żurawia 14 bud. B tel. 85 7409458

prof. dr hab. n. med. Jacek Borawski

E-mail: jacek.borawski@umb.edu.pl jborawski@post.pl

Białystok dn. 29 czerwca 2023 r.

OCENA

rozprawy doktorskiej lek. Eweliny Jadwigi Olczyk

pt. Diagnostyczna i rokownicza wartość nowych biomarkerów w nefropatii IgA

Badanie podjęte i zrealizowane przez Doktorantkę stanowi kolejny przyczynek w drodze do odkrycia wielce pożądanego elementu w nefrologii klinicznej – nieinwazyjnych markerów mierzalnych we krwi lub moczu i pozwalających, bez wykonywania biopsji nerki, na rozpoznanie rodzaju kłębuszkowego zapalenia nerek (KZN), określenie jego prawdopodobnej podatności na leczenie immunosupresyjne, spersonalizowanie i zoptymalizowanie tejże terapii, potwierdzenie uzyskania remisji klinicznej, identyfikację wznów, nawrotów, czy też właściwego momentu do zaprzestania obciążającego leczenia immunosupresyjnego.

W tym intrygującym i ważnym celu lek. Ewelina Olczyk podjęła, trafne w swym założeniu, wyzwanie zbadania niektórych cząsteczek biologicznych zaangażowanych w lub odzwierciedlający aktywację immunologiczną prowadzącą do lub występującą w przebiegu najczęstszego KZN u ludzi, tj. w nefropatii IgA (IgAN). Wybranymi markerami były 1): receptor CD89 obecny na monocytach i neutrofilach krwi żyłnej, 2) stężenie tego receptora w surowicy krwi żyłnej – tzw. forma rozpuszczalna (*soluble*, s) CD89, 3) stężenie niedogalaktozylowanej immunoglobuliny A1 (Gd-IgA1) w surowicy krwi oraz 4) stężenie sCD89, rozpuszczalnego receptora transferyny 1 (CD71, TfR) i aktywność enzymu transglutaminazy 2 (TG2) w moczu. Elementy te nie były, jak dotychczas, przedmiotem tak kompleksowych dociekań. Ergo, obecne badanie kliniczne nosi znamiona znacznej oryginalności naukowej.

Grupę badaną stanowiło 48 dorosłych osób z biopsyjnie rozpoznanym IgAN i sklasyfikowanym następnie według skali MEST-C, pozostających pod opieką Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Osiemnastu z tych chorych było leczonych *post-enrollment* immunosupresyjnie. Grupę kontrolną dla porównania wartości ekspresji/stężenia/aktywności badanych markerów u pacjentów z IgAN stanowiło 20 zdrowych ochotników dobranych właściwie pod względem wieku i płci do grupy badanej. Powyższe stanowi próbę reprezentatywną i pozwalającą na przeprowadzenie wiarygodnego pilotażowego badania klinicznego.

Praca doktorska ma układ typowy. Obejmuje ona 76 stron druku komputerowego, włączając w to 4 ryciny, 17 tabel i 123 pozycje piśmiennictwa. Na stronie początkowej umieszczono listę skrótów, co ułatwia czytanie pracy. We wstępie Doktorantka przedstawia charakterystykę kliniczną IgAN i jej współczesne leczenie oraz – szczególnie należnie – rolę powyższych badanych markerów biologicznych w patofizjologii tej glomerulopatii. Wstęp jest

jasny i przejrzysty, co stanowi dowód na właściwą znajomość problematyki będącej przedmiotem rozprawy doktorskiej. Wstęp jest też wprowadzeniem do sformułowania celów pracy – osobno szczegółowych i głównego. Nadrzędnym celem badawczym była ocena przydatności wymienionych powyżej markerów w rozpoznaniu, ocenie aktywności (w relacji do skali MEST-C) oraz prognozowaniu tempa progresji IgAN.

Metodologia laboratoryjnych badań naukowych to głównie cytometria przepływowa i metoda immunoenzymatyczna (ELISA) z wykorzystaniem referencyjnych zestawów handlowych oraz szereg typowych badań laboratoryjnych wykonanych w jednostce usługowej. Oznaczenia zostały opisane w pracy prawidłowo i wykonane starannie, zgodnie z przyjętymi zasadami i standardami. Do analizy statystycznej użyto referencyjnego oprogramowania elektronicznego oraz należnych parametrycznych i nieparametrycznych testów porównawczych międzygrupowych (dwustronnych i wielostronnych), liniowych i nieliniowych testów korelacyjnych oraz metody analizy przeżycia. Kalkulacje statystyczne zostały dokonane prawidłowo. Całość metodyki została przedstawiona w sposób umożliwiający powtórzenie badania.

Generalnie, praca doktorska – interpretując wyniki badania pilotażowego *stricte* zgodnie ze swoim podniosłym celem nadrzędnym – wskazuje na: i) prawdopodobną przydatność w diagnostyce IgAN badania stężenia rozpuszczalnego receptora CD89 w surowicy i moczu oraz stężenia transferryny w moczu, ii) prawdopodobny brak przydatności określania ilościowej ekspresji receptora CD89 na neutrofilach i monocytach oraz pomiaru stężenia niedogalaktozylowanej immunoglobuliny A1 zarówno w surowicy jak i w moczu oraz aktywności transglutaminazy 3 w moczu.

Uzyskane wyniki zostały przedstawione w sposób zrozumiały - w formie tekstu i głównie tabel. *Notabene* poznawanie i rozumienie utrudniają nieco nadmiarowe przedstawienie tych samych danych numerycznych w formie zarówno średniej ± 1 SD, jak i mediany (zakres międzykwartylowy). Autorka nie uniknęła też sporadycznych powtórzeń, przedstawiając wyniki w formie duplikowanego w różnych fragmentach pracy tekstu, jak i prezentując je zarówno w tabeli, jak i na rycinie (np. Tabela 3 i Rycina 3). W niektórych frazach mylnie wymieniane jest stężenie enzymu TG2 zamiast jego aktywności. Powyższe omyłki edycyjne i pojęciowe nie umniejszają jednak istotnie jakości prezentacji wyników badania. Testy korelacyjne liniowe *versus* nieliniowe zostały zaś zastosowane odpowiednio do danych o rozkładzie normalnym *versus* nienormalnym. Na osobne wyjaśnienie zasługuje termin „stan kliniczny” oraz metoda statystyczna jaką porównane zostały złożone dane ilościowe i numeryczne w Tabeli 3, k. 29 (Tytuł: *Zależność pomiędzy stanem klinicznym ... a nasileniem zmian nieodwracalnych w biopsji nerek*).

Uzyskane wyniki mają po części charakter potwierdzenia lub zaprzeczenia kilku badań wcześniejszych autorów, co jest umiejętnie poddane porównaniu oraz interpretacji własnej i ma również istotną wartość naukową. Niektóre z badanych markerów lub uzyskanych wyników są również nowatorskie. Należy do nich szczególnie: i) wykazanie 2.5-krotnie wyższego stężenia CD89 (w racjonalnym przeliczeniu na mg kreatyniny) w moczu pacjentów z IgAN *versus* w moczu osób zdrowych, jak również ii) porównanie aktywności transglutaminazy 2 w moczu pacjentów z IgAN *versus* zdrowych (różnica tylko marginalnie nieistotna). Nowatorskim, choć oczekiwanym wynikiem, jest wykazanie niższego stężenia markerów aktywacji zapalnej, takich jak Gd-IgA1 i CD89 we krwi pacjentów z IgAN leczonych immunosupresyjnie *versus* nieleczonych oraz analogicznie – stężenia CD89 w moczu. Podobnie biologicznie spodziewana, choć stwierdzona i opisana po raz pierwszy, jest dodatnia korelacja między ekspresją CD89 na neutrofilach i ekspresją tej cząsteczki na monocytach.

Reasumując, niektóre z uzyskanych wyników mają więc istotne naukowe znaczenie poznawcze i z dużym prawdopodobieństwem, zasługują na dalszą ocenę w badaniach klinicznych.

Omówienie wyników i dyskusja zostały podzielone na racjonalne i przejrzyste w formie fragmenty. Mimo że Autorka ponownie nie uniknęła powtórzeń *exprimere de verbo ad verbum* wyników, zostały one umiejętnie poddane porównaniom z danymi literaturowymi. Ponadto przedstawiła ona przemyślaną i logiczną interpretację własną stwierdzonych różnic lub podobieństw. Dyskusja jest wyczerpująca i uwzględnia właściwą literaturę naukową, zarówno najnowszą, jak i chwalebnie – historyczną. Dobór ten, pozostający w pewnym nadmiarze (aż 123 pozycje piśmiennictwa), świadczy o intensywnym przygotowaniu teoretycznym i czytelniczym Doktorantki.

Praca zakończona jest 7 wnioskami, sformułowanymi w istocie poprawnie. Zyskałyby one jednak i zapewne na: i) zmniejszeniu ich liczebności, ii) skondensowaniu treści, iii) doprecyzowaniu przesłania i iv) dobitnym wybrzmieniu najistotniejszych konkluzji. Wniosek 6, jako negatywny, mógłby być pominięty. Z kolei Wniosek 7 ("*... potwierdzono, że zmiany nieodwracalne stwierdzone w badaniu histopatologicznym biopatów nerek mają niekorzystny wpływ na postęp przewlekłej choroby nerek*", k. 56) nosi znamiona nefrologicznego truizmu, choć zaiste wynika on z przeprowadzonego badania. Uwagi te nie umniejszają istotnie wartości poczynionego wnioskowania. Ufam, że zostaną one uwzględnione w przygotowaniu pracy do druku w periodyku specjalistycznym.

Z powinności recenzenta i zgodnie z rekomendacją mi Rady Dyscypliny Nauki Medyczne UM we Wrocławiu wymieniam również inne pomniejsze pomyłki i niedociągnięcia: i) niespójność w używaniu nazw pełnych zamiast przyjętych z inicjatywy własnej skrótów i symboli, a także powtarzane używanie zarówno nazwy pełnej jak i („w nawiasach”) symbolu (vide np. wnioski) – nie ułatwia to czytania rozprawy, ii) używanie frazeologii zarezerwowanej dla badań prospektywnych w celu charakteryzowania własnych porównań międzygrupowych, np. „Przeprowadzono analizę wpływu terapii immunosupresyjnej ...” (str. 38), podczas gdy w rzeczywistości porównano wartości badanych markerów u pacjentów z IgAN leczonych immunosupresyjnie versus nieleczonych, iii) niedoprecyzowanie sposobu wykluczenia z udziału w badaniu pacjentów z „... nefropatią IgA wtórną do innych chorób” (k. 20), a tym samym nie zwrócenie należytej uwagi (swojej i czytelnika) na konieczność unikania zjawiska „bias” w projektowaniu badania klinicznego, iv) nie wymieniono też czynników ryzyka miażdżycy (nieoczywistych, odmiennych i nieco liczniejszych od klasycznych czynników Framingham występujących w populacji osób z przewlekłą chorobą nerek), które to czynniki dyskwalifikowały pacjentów z IgAN z leczenia steroidami i skłaniały terapeutów do użycia tylko mykofenolanu mofetylu (k. 20, wyjaśnienie wskazane ponownie w celu uniknięcia posądzenia o „bias”), v) streszczenia rozprawy – zarówno w języku polskim jak i w języku angielskim skorzystałyby ze zwięzłości, wzorem renomowanych czasopism naukowych ograniczających dozwoloną liczbę słów do zwykle 200 -250.

Powyższe uwagi nie umniejszają pozytywnej oceny przedłożonej mi do recenzji rozprawy doktorskiej. Została ona zaplanowana i przeprowadzona prawidłowo. Forma językowa, stylistyczna i gramatyczna prezentacji jest dobra. Z merytorycznego punktu widzenia uważam, że rozprawa ta stanowi wartościowy wkład do wielce pożądanej wiedzy o używaniu nieinwazyjnych markerów biologicznych w diagnostyce i monitorowaniu leczenia kłębuszkowego zapalenia nerek *subforma* IgAN.

Rozprawa doktorska lek. Eweliny Jadwigi Olczyk pt. „Diagnostyczna i rokownicza wartość nowych biomarkerów w nefropatii IgA” (przewód doktorski przeprowadzony pod patronatem

prof. dr hab. n. med. Magdaleny Krajewskiej) spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Tym samym z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie jej Autorki – lek. Eweliny Jadwigi Olczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Białystok dn. 29 czerwca 2023 r.

prof. dr hab. n. med. Jacek Borawski