

Łódź, 06 grudzień 2019

dr hab. n. med. prof. nadzw. Ilona Kurnatowska

Klinika Chorób Wewnętrznych i Nefrologii Transplantacyjnej,
I Katedra Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ilona.kurnatowska@umed.lodz.pl

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

Lek Dagny Rukasz

„Rola przeciwciał anti-PLA2R w glomerulopatiach”

promotor: Prof. dr hab. n. med. Magdalena Krajewska

promotor pomocniczy: dr n. med. Katarzyna Kościelska-Kasprzak

Nefropatia błoniasta (MN) jest jedną z najczęstszych przyczyn zespołu nerczycowego (ZN) u osób dorosłych rasy białej nie chorujących na cukrzycę. Przyjmuje się, że u 75% dorosłych chorych ma charakter pierwotny (PMN), natomiast w pozostałych przypadkach, przebiega wtórnie do chorób autoimmunologicznych (najczęściej toczeń układowy), zakażeń wirusowych (WZW t.B i C), przyjmowanych leków w tym NLPZ. Najczęściej, bo aż w 25-30% występuje w przebiegu nowotworów (m.inn.: płuc, okrężnicy, sutka, nerki, gruczołu krokowego, żołądka), co powinno zwiększyć czujność onkologiczną wśród nefrologów. Szacuje się, że u ok. 10% pacjentów w chwili rozpoznania MN rozwija się już choroba nowotworowa lub rozwinię się w ciągu najbliższego roku. Cechą charakterystyczną w przebiegu naturalnym MN jest występowanie remisji samoistnych. Prawdopodobieństwo wystąpienia remisji samoistnej jest odwrotnie proporcjonalne do wielkości dobowej utraty białka z moczem oraz zależne od płci,

wieku oraz czynności wydalniczej nerek w momencie rozpoznania choroby. Brak remisji, w tym farmakologicznej związany jest z dużym ryzykiem rozwoju schyłkowej niewydolności nerek, ale i zgonu. Choroba cechuje się również dużą skłonnością do nawrotów.

W ostatnich latach stwierdzono, że kluczowe znaczenie w patogenezie MN odgrywa antygen PLA2R będący receptorem dla fosfolipazy A2 zlokalizowany na powierzchni podocyta. U niewielkiego odsetka (5-10%) pacjentów z PMN, u których nie stwierdza się przeciwciał anti-PLA2R istotne znaczenie przypisuje się innemu antygenowi błonowemu podocytów tj. Trombospondynie-1 z domeną 7A (Thrombospondin type-1 domain-containing 7A - THSD7A) wykazującemu podobieństwo strukturalne i biochemiczne do PLA2R oraz skierowanych w stosunku do niego przeciwciał klasy IgG4.

Algorytm diagnostyczny nefropatii błoniastej obejmuje badania serologiczne, immunologiczne, obrazowe oraz wykonanie biopsji nerki. Zalecanym w chwili obecnej, choć nie we wszystkich ośrodkach wykonywanym badaniem jest oznaczenie przeciwciał anti-PLA2R, które jak podaje piśmiennictwo z dużą czułością i swoistością identyfikują pierwotne tło MN. Doktorantka w swojej pracy podjęła się klinicznej oceny przydatności oznaczania przeciwciał anti-PLA2R w różnicowaniu pierwotnych i wtórnych postaci nefropatii błoniastej oraz ich znaczenia w przewidywaniu rokowania u chorych na tę postać kłębuszkowego zapalenia nerek (KZN). Odróżnienie pierwotnej od wtórnej przyczyny MN bywa trudne. Diagnostycznie kosztowne, ale i wymagające długiego czasu jest poszukiwanie ewentualnych ognisk nowotworowych. Identyfikacja wskaźnika pozwalającego ocenić czy mamy do czynienia z pierwotną czy wtórną postacią MN, a przy tym pozwalającego na ocenę rokowania jest klinicznie bardzo pożądane. Takich zadań podjęła się w swojej pracy lek. Dagna Rukasz.

Przedstawiona do oceny praca liczy 123 strony, w tym 32 tabele, 26 rycin i 3 fotografie dokumentujące obrazy histopatologiczne bioptatów nerki i ma układ typowy dla prac na stopień naukowy doktora. Na początku Autorka zamieściła spis treści oraz wyjaśnienie stosowanych skrótów. Wyodrębnione rozdziały to Wstęp, Cele pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim. Na końcu pracy umieszczono bardzo trafnie dobrane i aktualne piśmiennictwo. Podział poszczególnych rozdziałów na podrozdziały powoduje, że praca staje się bardziej czytelna i łatwa w interpretacji.

Wstęp pracy zawiera podstawowe informacje dotyczące epidemiologii nefropatii błoniastej, zmian histopatologicznych występujących w tej glomerulopatii oraz szczegółową

charakterystykę autoprzeciwciał biorących udział w jej rozwoju ze szczególnym uwzględnieniem receptora dla fosfolipazy drugiej (PLA2R) oraz znaczenia przeciwciał anti-PLA2R w diagnostyce tej choroby. Autorka zwraca również uwagę na niejednoznaczną rolę przeciwciał przeciw trombospondynie 1 zawierającej domenę 7A (anty-THSD7A) w surowicy w diagnostyce różnicowej MN. Wstęp stanowi dobre podłoże do wyjaśnienia celów pracy.

Cele pracy w postaci 6 punktów sformułowane są jasno i zachęcają klinicystę do przesłедzenia wyników gdyż zmięrzają się z trudnym klinicznie tematem – znaczenia przeciwciał anti-PLA2R w odróżnieniu pierwotnych od wtórnych postaci błoniastego KZN oraz ich znaczenia rokowniczego, a także wyjaśnienia niejasnej dotąd roli diagnostycznej przeciwciał anti-THSD7A w tej nefropatii.

Rozdział „Materiał i metody” zawiera wyczerpujące informacje na temat metod badawczych użytych w pracy. Grupa badana z jednym typem KZN - PMN składająca się z 50 pacjentów jest jak na warunki jednego ośrodka licznie duża. Uzyskane wyniki Doktorantka odnosi do pacjentów z wtórnym MN (18 chorych), ale również licznej bo 138 - osobowej grupy chorych z innymi typami KZN oraz 20-u zdrowych osób. Przedstawiona charakterystyka grupy badanej podana jest rzetelnie, interesujące jest przedstawienie współistnienia chorób towarzyszących i ich częstość u chorych z PMN. Ponieważ Autorka analizuje zależność stężenia cholesterolu i występowania przeciwciał anti-PLA2R wskazane byłoby umieszczenie informacji czy pacjenci przyjmowali leki hipolipemizujące w trakcie leczenia i prowadzonych analiz, co może mieć wpływ na oceniane zależności.

Wyniki wielokierunkowej skomplikowanej statystycznie analizy zebranych oznaczeń zostały opisane bardzo szczegółowo i precyzyjnie oraz przedstawione w postaci przejrzyste skonstruowanych 32 tabel oraz 26 rycin. Uzyskane wyniki prezentowane są w powiązaniu z prezentacją kliniczną choroby, co jest bardzo ciekawe i użyteczne klinicznie. Ponieważ przeciwciała anti-PLA2R wchodzą dopiero do diagnostyki KZN to przedstawiona analiza doświadczeń własnych Ośrodka, który Doktorantka reprezentuje, dotycząca populacji polskiej jest niezwykle cenna, zwłaszcza że odnosi się nie tylko do wartości diagnostycznej badania ale również prognostycznej z co najmniej 2 letnim okresem obserwacji. Ważną ze względów klinicznych jest informacja o wysokiej zgodności wyników testów immunofluorescencji oraz ELISA dla oznaczenia przeciwciał anti-PLA2R w surowicy, gdyż laboratoria zazwyczaj dysponują tylko jedną metodą. Obserwacja poczyniona więc przez autorkę uspokaja, że niezależnie którą metodą wykonane badanie ma podobną wartość diagnostyczną.

Niezwykle ciekawą jest ocena obecności antygenu PLA2R oraz złożeń IgG4 w kłębuszkach nerkowych, którą przeprowadzono w materiale biopsyjnym pobranym od 32 chorych z PMN, uzyskując dość zaskakujący wynik – baraku korelacji pomiędzy obecnością w/w antygenów z obrazem klinicznym MN, a także obecności antygenu w badaniu histopatologicznym, a obecnością przeciwciał anti-PLA2R w surowicy chorych. Natomiast zaobserwowano pozytywną zależność pomiędzy nasileniem reakcji immunohistochemicznej dla złożeń IgG4 w kłębuszku nerkowym, a stężeniem przeciwciał anti-PLA2R w surowicy.

Bardzo ciekawe i rzadko spotykane jest zamieszczenie w dysertacji opisów przypadków oraz dokonana przez Doktorantkę analiza zależności pomiędzy obecnością przeciwciał (ocena półilościowa i ilościowa), a przebiegiem choroby i reakcją na stosowane leczenie, co pozwoliło Autorce na wyodrębnienie kilku różnych przebiegów klinicznych w powiązaniu z obecnością lub brakiem przeciwciał anti-PLA2R. Prezentacja przypadków bardzo wzbogaca pracę. Z ciekawości klinicznej Recenzent ma kilka pytań do Doktoranki:

1. Czy przypadku chorej prezentowanej jako przypadek H, nie należałoby traktować jako wtórnej nefropatii błoniastej do rozpoznanego w 5 m-cy po wykryciu KZN mięsaka Kaposiego?
2. Czy we wszystkich przypadkach stosowano rutynowo IKA/sartany?
3. Jakie stężenia C_0 dla CsA/TAK uznawano za terapeutyczne?

Dyskusja napisana jest bardzo rzeczowo i na temat. Czyta się ją z kliniczną ciekawością. Dowodzi dużej dojrzałości lekarz Dagny Rukasz, widać w niej doskonałą znajomość najnowszego piśmiennictwa dotyczącego prezentowanego zagadnienia. Koleżanka prezentuje poczynione przez siebie obserwacje na tle doniesień innych autorów dokonując trafnej analizy i wyciągając poprawne wnioski. Krytycznie również odnosi się do swoich wyników podkreślając, zwłaszcza w odniesieniu do badań histopatologicznych małą liczebność swojej grupy badanej. Wszystkie najistotniejsze obserwacje z przeprowadzonych analiz Autorka umieszcza w postaci 8 bardzo istotnych klinicznie wniosków końcowych. Są one konsekwentną i jasną odpowiedzią na założone cele, logicznie wynikają z omówienia przeprowadzonych analiz i znajdują w nich pełne uzasadnienie. Bibliografia liczy 96 bardzo dobrze dobranych, aktualnych pozycji.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Dagny Rukasz spełnia wszystkie wymogi na stopień doktora nauk medycznych. Doktorantka podjęła ważny z

klinicznego punktu widzenia 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.

Przedstawiam zatem Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. Dagny Rukasz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc ponadto pod uwagę staranność i wszechstronność analizy materiału badawczego, aktualność podjętego tematu oraz istotne implikacje kliniczne uzyskanych wyników, wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Dr hab. n med. prof. UM Ilona Kurnatowska

Prof. nadzw. dr hab. n. med.
Ilona Kurnatowska
specjalista chorób wewnętrznych
nefrologii i transplantologii klinicznej
6713855