



Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpł. dnia	01-07-2020
L. dz. RN-BM/	

OCENA ROZPRAWY NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH

lekarza Leopolda Radosława Rehana

pt. „Związek pomiędzy przewlekłą chorobą nerek a aktywnością sirtuiny 1 w limfocytach krwi obwodowej”

Przewlekła choroba nerek (PCHN) jest wielobjawowym zespołem chorobowym wynikającym ze zmniejszenia liczby czynnych nefronów niszczonych przez różnorodne procesy chorobowe. Zachorowalność roczna na przewlekłą chorobę nerek na świecie wynosi około 150 osób/1 mln mieszkańców i ciągle wzrasta. Wyniki badań epidemiologicznych prowadzonych na całym świecie wskazują, iż około 10-13% ludzi znajduje się obecnie w jednym ze stadiów tego zespołu chorobowego. Niedożywienie i zapalenie, nieodłączne elementy towarzyszące przewlekłej chorobie nerek prowadzi do aterogenezy naczyń, której nasilenie ściśle koreluje z występowaniem powikłań. Obecnie wciąż trwają badania mające na celu poszukiwanie czynników prozapalnych, które odgrywają rolę w patogenezie zespołu niedożywienie – zapalenie, prowadząc do nasilenia powikłań narządowych w przewlekłej chorobie nerek.

Dlatego też uważam, że podjęcie badań mających na celu poszukiwanie nowych czynników biorących udział w tym procesie jest bardzo istotne. Może się również przyczynić do opracowania nowych metod terapeutycznych wpływających opóźnienie progresji zmian narządowych.

Przedstawiona mi do oceny praca liczy 73 strony i ma typowy układ. Właściwą treść pracy poprzedzają wykaz użytych skrótów oraz spis treści. W obszernym wstępie liczącym 24 strony Doktorant początkowo wprowadza czytelnika w tematykę pracy a następnie w problematykę przewlekłej choroby nerek, podaje obowiązującą

definicję, klasyfikację i cele terapeutyczne PCHN. W dalszej części szczegółowo opisuje rolę zapalenia w patogenezie różnych chorób, w tym roli zespołu niedożywienia – zapalenie w patogenezie powikłań narządowych w przewlekłej chorobie nerek. Znaczna część wstępu jest poświęcona sirtuinom, które są przedmiotem badań zawartych w powyższej dysertacji. Autor opisuje szczegółowo fizjologiczną rolę sirtuin, jak również ich znaczenie w procesie zapalenia wskazując na ich funkcję w redukcji uszkodzeń narządowych. W mojej ocenie najciekawszą częścią wstępu jest część dotycząca roli sirtuiny 1 (SIRT1), występującej w jądrze komórkowym w procesach chorobowych i naprawczych toczących się w nerce. Jak wskazuje Autor, przytoczone publikacje nie pozwalają na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków dotyczących roli SIRT1 w patogenezie chorób nerek. Wiadomo, że SIRT1 odgrywa istotną rolę w procesie zmniejszenia stresu oksydacyjnego, jednak poprzez indukcję komórek śródbłonka może być również odpowiedzialna za formowanie torbieli w nerkach. Dotychczas pozytywne działanie aktywacji SIRT1 wykazano w cukrzycy, poprzez zachowanie funkcji podocytów, zmniejszenie albuminurii oraz redukcję procesu włóknienia. W ostatnim podrozdziale wstępu Autor wprowadza czytelnika w problematykę roli SIRT1 w patogenezie przewlekłej choroby nerek, opisując szczegółowo badania dotyczące interakcji między SIRT1 a NF- κ B oraz efektów terapii resweratolem, działającym poprzez indukcję ekspresji SIRT1 u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek. Powyższe badanie wskazuje nie tylko na pozytywny wpływ ochronny na nerki, ale również na układ sercowo-naczyniowy. Stąd też podjęcie przez Doktoranta badań mających na celu zbadanie stężenia i aktywności SIRT1 w limfocytach krwi obwodowej dzieci z PCHN w zależności od stadium PCHN oraz w ocenie ich zależności od wybranych markerów stanu zapalnego jest w pełni uzasadniona i bardzo istotna z klinicznego punktu widzenia. Dodatkowym celem pracy jest odpowiedź na pytanie czy SIRT1 może mieć znaczenie kliniczne w opracowaniu terapii.

W rozdziale „Materiał i metody” Doktorant krótko scharakteryzował grupę badaną i kontrolną. Grupa badana, licząca 40 pacjentów została podzielona na 3 podgrupy w zależności od stadium PCHN, w oparciu o obowiązującą klasyfikację KDIGO 2012. Grupa kontrolna została opisana dwukrotnie, przy czym Autor podaje w jednym miejscu zakres wieku 3-15 lat a w drugim 3-16 lat. W tym miejscu brakuje mi również porównania wieku i płci grupy badanej i kontrolnej. Wydaje się, że grupa

badana jest istotnie statystycznie starsza, jednak należy to potwierdzić analizą statystyczną. W tabeli 3 i 4 należałoby dodać kolumny pokazujące istnienie zależności statystycznej (p), co znacznie ułatwiłoby interpretację wyników. W przypadku dzieci z przewlekłą chorobą nerek brakuje mi informacji o chorobie zasadniczej, która doprowadziła do przewlekłej choroby nerek, czasie jej trwania, stosowanych lekach a w przypadku pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek o metodzie dializoterapii.

W podrozdziale dotyczącym oznaczeń laboratoryjnych Doktorant użył sformułowania „rutynowe badania laboratoryjne krwi obwodowej” – proponowałabym opisać o jakie rutynowe badania chodzi. Nie znalazłam też, żadnej informacji na temat zgody Komisji Bioetycznej oraz zgody pacjentów/opiekunów prawnych na udział w badaniu.

Nie mam uwag dotyczących metodologii pozostałych oznaczeń. Proponowałabym dopisać wzór Schwartza, z którego korzystał Doktorant przy obliczaniu eGFR.

W rozdziale analiza statystyczna brakuje informacji o rozkładzie zmiennych i w związku z tym trudno jest ocenić czy do analizy wybrano właściwe testy. Do porównań zastosowano testy nieparametryczne a do korelacji test parametryczny Pearsona. Błąd oceny statystycznej przyjęto na standardowym poziomie.

Rozdział „Wyniki” jest z pewnością najbardziej wartościową częścią pracy. W poszczególnych tabelach i na rycinach Autor przedstawia szczegółowo wyniki swojej pracy porównując wyniki początkowo między pacjentami z przewlekłą chorobą nerek w odniesieniu do grupy kontrolnej a następnie wyniki uzyskane w poszczególnych podgrupach w zależności od stopnia nasilenia PCHN. W tabeli 6, liczebność zarówno grupy badanej, jak i kontrolnej nie zgadza się z liczebnością podaną w Materiale (grupa badana - 33 v 40, grupa kontrolna 29 v 35). W tabeli 7 w przypadku stężenia SIRT1 liczebność jest prawidłowa, natomiast w przypadku aktywności, liczebność grup nie pokrywa się ani z danymi z tabeli 6, ani z danymi z Materiału.

W rozdziale wyniki Doktorant analizuje stężenie i aktywność sirtuiny 1 początkowo w odniesieniu do grupy kontrolnej a następnie w poszczególnych podgrupach. Mimo, że jak podkreśla różnice nie były istotne statystycznie zaobserwował tendencję do wzrostu stężenia sirtuiny 1 u dzieci we wczesnym i zaawansowanym stadium PCHN a następnie obniżenie u pacjentów dializowanych.

Są to ciekawe spostrzeżenia, które wymagają potwierdzenia w dużym badaniu wieloośrodkowym, ponieważ brak istotności statystycznej może wynikać z małej liczebności grup. Należy również wziąć pod uwagę metodę leczenia nerkozastępczego i powikłania sercowo-naczyniowe, których obecność może mieć wpływ na stężenie i aktywność SIRT1 w tej grupie pacjentów. Drugą ciekawą obserwacją jest stwierdzenie dodatniej korelacji między stężeniem białka CRP i aktywnością SIRT1, co jest nową obserwacją, nie potwierdzoną dotychczas w literaturze. Należy jednak zaznaczyć, że wykonane przez Doktoranta badania są dotychczas jedynymi przeprowadzonymi u dzieci z przewlekłą chorobą nerek. Stąd też trudno jest je odnieść do populacji dorosłych, u których występują zwykle inne schorzenia prowadzące do PCHN. Podobnie w populacji dziecięcej Doktorant nie potwierdził opisywanej w literaturze u dorosłych dodatniej korelacji między stężeniem SIRT1 a eGFR i ujemnej ze stężeniem kreatyniny.

Najbardziej wartościową częścią dysertacji jest ciekawie prowadzona dyskusja. Autor interpretuje swoje obserwacje w odniesieniu do danych z literatury, wyraźnie wskazując na odmiennność swoich wyników. Obiektywnie odnosi się do uzyskanych wyników oraz obserwacji innych badaczy. Poszukuje wyjaśnienia stwierdzonych zależności. Dodatkowo przeprowadził analizę wpływu wieku oraz stopnia zaawansowania przewlekłej choroby nerek na liczbę limfocytów, co wprawdzie nie było bezpośrednim przedmiotem badań, jednak jest ciekawym elementem całej pracy. Należy jednak zwrócić uwagę, że przy analizie wpływu wieku na badane parametry u dzieci i dorosłych nie można porównywać okresu wzrastania/dojrzewania do okresu starzenia się, ponieważ może to prowadzić do błędnych wniosków (str. 52). Bardzo ważnym elementem dla całości pracy jest rozdział dotyczący jej ograniczeń, w którym Autor zwraca uwagę na najważniejsze z nich, które mogą mieć wpływ na wartość uzyskanych wyników.

Pracę kończą 4 wnioski, które należy uporządkować. Wniosek 1 odpowiada częściowo na cel 2 postawiony w pracy. W celu Autor pisze o wybranych markerach stanu zapalnego a w pracy analizował jedynie zależność z CRP. Należałoby zmienić brzmienie celu pracy lub rozszerzyć wniosek o analizę zależności z liczbą leukocytów. Wniosek 2 odpowiada na cel 1 a 3 jest wnioskiem dodatkowym. Zarówno cel nr 3, jak i wniosek 4 jest bardzo ogólny a zagadnienie tam zawarte nie było przedmiotem tej pracy, należałyby go zatem usunąć.

Prace kończy streszczenie w języku polskim i angielskim, które pozwala na logiczne usystematyzowanie wyników pracy.

Piśmiennictwo cytowane w pracy zostało dobrane bardzo trafnie. Większość cytowanych prac jest napisana po angielsku. Autor cytuje również najważniejsze pozycje z polskich ośrodków. Brakuje jednak prac opublikowanych w 2020 roku.

W podsumowaniu recenzji pragnę podkreślić, że temat pracy został wybrany i przedstawiony prawidłowo. Uzyskane wyniki pozwalają na sformułowanie jedynie wstępnych wniosków, które zdecydowanie wymagają kontynuacji podjętych badań w formie prospektywnego badania wieloośrodkowego, które pozwoli na ustalenie, czy badanie stężenia i/lub aktywności sirtuiny 1 w limfocytach może mieć znaczenie praktyczne w postępowaniu z dzieckiem z przewlekłą chorobą nerek.

Z obowiązku Recenzenta muszę wspomnieć o drobnych błędach edytorskich, takich jak dwukrotne powtórzenie akapitu dotyczącego charakterystyki biochemicznej i populacyjnej (str 33), skrót CACUT – powinno być CAKUT (CAKUT- congenital anomalies of the kidney and urinary tract) (str. 46), czy też niewłaściwe sformułowania np. „spadek wykładników stanu zapalnego”, czy „osobnik geriatryczny”

Wymienione powyżej uwagi nie wpłynęły na moją **pozytywną ocenę pracy**. Rozprawa doktorska lekarza Leopolda Radosława Rehana pt. „Związek pomiędzy przewlekłą chorobą nerek a aktywnością sirtuiny 1 w limfocytach krwi obwodowej” spełnia warunki określone 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 (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm. W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lekarza Leopolda Radosława Rehana do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Anna Wasilewska

KIEROWNIK
Kliniki Pediatrii i Nefrologii
prof. dr hab. n. med. Anna Wasilewska