

dr hab. med. Sławomir Lizakowski
Klinika Nefrologii, Transplantologii
i Chorób Wewnętrznych
Gdański Uniwersytet Medyczny

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Agnieszki Sas-Strózik zatytułowanej

„Znaczenie receptorów typu 1 dla angiotensyny II w odpowiedzi humoralnej po przeszczepieniu nerki”

Przeszczepienie nerki jest najlepszą metodą leczenia nerkozastępczego. Zarówno badania obserwacyjne, jak i rejestrowe wykazują, że przeżycie pacjentów po przeszczepieniu nerki jest istotnie dłuższe, aniżeli porównywalnej grupy chorych pozostających na dializie. Utrata narządu przeszczepionego wiąże się z koniecznością powrotu na dializę z pogorszeniem rokowania co do przeżycia oraz obniżeniem jakości życia. Jak się obecnie uważa, istotną przyczyną przewlekłej dysfunkcji nerki przeszczepionej jest odrzucanie zależne od przeciwciał (*ang. antibody-mediated rejection; AMR*), co w wielu przypadkach prowadzi do utraty nerki przeszczepionej. Związek przeciwciał anty-HLA z przewlekłą dysfunkcją nerki przeszczepionej jest jasno ustalony, a monitorowanie ich obecności stało się standardem postępowania. Na podstawie oznaczeń przeciwciał przeciwko antygenom dawcy (*donor specific antibodies, DSA*) można ustalić strategię terapeutyczną u pacjentów z cechami AMR, która obejmuje usuwanie krążących DSA, blokowanie efektów działania DSA i zmniejszenie ich wytwarzania. Pomimo szerokiej wiedzy dotyczącej AMR, u części chorych przebieg kliniczny jest odmienny, co skłoniło badaczy do zwrócenia uwagi na rolę przeciwciał, które nie są swoiste dla antygenów HLA. Przeciwciała te, nazywane non-HLA, są skierowane przeciwko determinantom antygenowym obecnym na komórkach istotnych w procesie uszkodzenia nerki na podłożu immunologicznym oraz nieimmunologicznym (m.in. limfocytach, podocytach, komórkach cewek i śródbłonna). Ważną rolę w nieimmunologicznym uszkodzeniu nerek (własnych, jak i przeszczepionych) odgrywa pobudzenie układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAAs). Nie dziwi zatem, że przeciwciała przeciwko elementom składowym tego układu stały się istotnym punktem zainteresowania badaczy. Bardzo ważną składową RAAs jest receptor AT₁ dla angiotensyny II (AT₁-R). Pobudzenie tego receptora wywołuje szereg niekorzystnych efektów hemodynamicznych (wzrost ciśnienia tętniczego systemowego i wewnątrzkrążuszkowego, niedokrwienie śródmiąższu nerki) oraz niehemodynamicznych (m.in. nasilenie proliferacji komórek, stanu zapalnego, agregacji płytek krwi, stresu oksydacyjnego oraz włóknienia). Należące do grupy przeciwciał non-HLA, przeciwciała przeciwko receptorowi typu 1 dla angiotensyny II (anty-AT₁-R) powodując pobudzenie tego receptora mogą prowadzić do uszkodzeniu i niewydolności nerki przeszczepionej. Udowodniono, że obecność

anty-AT₁-R przed przeszczepieniem oraz pojawiających się de novo po przeszczepieniu jest związana z krótszym przeżyciem nerki przeszczepionej. Opracowanie nowych strategii diagnostyczno-terapeutycznych uwzględniających ekspresję AT₁-R w nerce przeszczepionej w powiązaniu z występowaniem przeciwciała anty-AT₁-R może wpłynąć na kliniczny przebieg odrzucania na podłożu immunologicznym oraz być pomocne w opracowaniu nowego schematu postępowania w tych przypadkach.

Biorąc pod uwagę powyższe informacje, uważam, że podjęta przez Doktorantkę próba oceny występowania oraz znaczenia ekspresji receptorów typu 1 dla angiotensyny II w biopsjach u chorych po przeszczepieniu nerki, jest godna szczególnej uwagi i poparcia. Realizacja niniejszego celu głównego pracy została oparta na realizacji poniższych celów szczegółowych:

1. Ocenie ekspresji receptorów typu 1 dla angiotensyny II w poszczególnych kompartmentach nerki przeszczepionej u pacjentów po przeszczepieniu nerki, którzy mieli wykonaną biopsję z powodu pogorszenia jej funkcji.
2. Ocenie współwystępowania ekspresji receptorów AT₁ w biopsjach nerek przeszczepionych oraz przeciwciał anty-AT₁R w surowicy biorców.
3. Analizie obecności receptorów AT₁ w nabłonku cewkowym oraz ocena ich związku z utratą nerki przeszczepionej.
4. Analiza obecności receptorów AT₁ w biopsjach przeszczepów oraz przeciwciał anty-AT₁R w surowicy w powiązaniu z oceną utraty nerki przeszczepionej.

Temat, jak i powyższe cele rozprawy doktorskiej lek. Agnieszki Sas-Strózik należy uznać za aktualne, interesujące i niezwykle istotne z klinicznego punktu widzenia.

Rozprawa jest dziełem składającym się z trzech prac opublikowanych w języku angielskim, w czasopiśmie indeksowanym na Liście Filadelfijskiej. Dwie z nich to prace oryginalne opublikowane w *Transplantation Proceedings* (IF 0,959) („Histopathological Relevance of Angiotensin II Type 1 Receptor in Renal Transplant Biopsy” oraz „Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Renal Transplant Biopsies and Anti-AT₁R Antibodies in Serum Indicates the Risk of Transplant Loss”). Trzecia z prac opublikowana w *Advances in Clinical and Experimental Medicine* (IF 1,22) w roku 2020 ma charakter pracy poglądowej i jest zatytułowana „The Significance of Angiotensin II Type 1 in Renal Transplant Injury”.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska zatytułowana „Znaczenie receptorów typu 1 dla angiotensyny II w odpowiedzi humoralnej po przeszczepieniu nerki” ma dość typowy dla tego rodzaju prac układ. Pierwsze strony obejmuje spis treści oraz wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską. Następnie znajdują się bardzo obszerne streszczenia w języku polskim i angielskim zakończone przedstawieniem wniosków. Streszczenia zawierają także omówienie publikacji będących podstawą rozprawy, które zostały umieszczone zostały w następnym rozdziale. Kolejną część pracy

stanowi krótkie podsumowanie (2 strony) oraz jasno i syntetycznie sformułowane wnioski wynikające w pełni z otrzymanych wyników. Ostatnią częścią pracy są załączniki obejmujące oświadczenia współautorów prac określające indywidualny wkład w powstawanie prac oraz dorobek naukowy. Pragnę zarazem zaznaczyć, że jest to dorobek dla obiecujący młodego pracownika nauki (Doktorantka ukończyła studia w roku 2016), bowiem obejmuje 5 prac z sumarycznym IF 5,08 oraz dodatkowo 22 doniesienia zjazdowe, w tym 3 przedstawiane jako prezentacje ustne.

W pierwszej z prezentowanych prac stanowiących część niniejszej rozprawy doktorskiej, zatytułowanej "Histopathological Relevance of Angiotensin II Type 1 Receptor in Renal Transplant Biopsy" dokonano analizy obecności receptorów AT₁ w biopsji nerki przeszczepionej u 118 chorych, u których wskazaniem do wykonania biopsji było pogorszenie funkcji graftu. Obecność AT₁-R stwierdzono w nabłonku cewkowym w 26% biopsjowanych nerek, natomiast w kłębuszkach, kapilarach okołocewkowych, śródmiąższu i naczyniach krwionośnych jedynie w pojedynczych przypadkach. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że ekspresja receptorów AT₁ w nabłonku cewkowym jest związana z większym ryzykiem utraty nerki przeszczepionej, bowiem w rocznej obserwacji aż 36% chorych z tej grupy utraciło nerkę, w porównaniu z 15% biorców bez ekspresji AT₁-R (p= 0,008). Uważam, że w tabeli 1 zawierającej charakterystykę pacjentów w grupach AT₁-R (+) i AT₁-R(-) powinny być zawarte informacje statystyczne umożliwiające porównanie obu grup (p value), zwłaszcza dla danych, które jak się różnią się pomiędzy grupami: odsetek chorych po drugim przeszczepieniu (7,1 vs 2,6 chorych), przyczyna niewydolności nerek (przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek 17 vs 31; inne 12 vs 22 chorych) oraz wiek (38 vs 44 lat). Dodam, że informacje takie zostały zawarte w tabeli opisującej podstawową charakterystykę grup w pracy nr 2. Niemniej jednak jest to bardzo ciekawa publikacja, dużo wnosząca do aktualnego stanu wiedzy w zakresie omawianego tematu i na chwilę obecną pierwsza obejmująca powyższe zagadnienia u biorców nerki.

W drugiej pracy oryginalnej zatytułowanej „Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Renal Transplant Biopsies and Anti-AT1R Antibodies in Serum Indicates the Risk of Transplant Loss” dokonano analizy obecności receptorów AT₁ w biopsjach nerki oraz przeciwciał anti-AT₁-R w surowicy chorych, którzy mieli wykonaną biopsję nerki przeszczepionej również z powodu pogorszenia jej funkcji. Ekspresję receptorów w nabłonku cewkowym stwierdzono u 67/115 biorców i podobnie jak we wcześniejszej analizie, ekspresja AT₁-R w innych częściach nerki była znacząco mniejsza (w kłębuszkach u 5 chorych oraz u 1 chorego w kapilarach okołocewkowych). Spośród 67 chorych ze stwierdzoną ekspresją AT₁-R u 16 chorych dodatkowo potwierdzono obecność przeciwciał anti-AT₁-R. Wykazano, iż ekspresja AT₁-R z obecnością przeciwciał anti-AT₁R wiąże się z większym ryzykiem utraty przeszczepionej nerki (w 1-, 2- i 3-letniej obserwacji do utraty graftu doszło odpowiednio u 37%, 43% i 50% chorych), w porównaniu z pacjentami bez ekspresji AT₁-R i bez przeciwciał anti-AT₁R w surowicy (odpowiednio 10%, 17%, 21% chorych). Ponadto stwierdzono, że ryzyko utraty przeszczepu

może być większe, jeśli ekspresja AT₁-R występuje w mikrokrążeniu nerki. Tego typu zmiany stwierdzono jedynie 6 chorych (3,8%), niemniej znaczenie ekspresji AT₁-R w tej lokalizacji uznano za istotne, bowiem u 3 biorców rozpoznano ostre odrzucanie zależne od przeciwciał (aAMR), u dwóch kolejnych stwierdzono przewlekłe odrzucanie zależne od przeciwciał (cAMR), a jeden z nich miał ostrą martwicę cewek. W tej grupie 3 pacjentów straciło graft w ciągu 24 miesięcy od biopsji, pomimo intensywnego leczenia obejmującego IVIG, terapeutyczną wymianę osocza, rytuksymab, bortezomib.

Trzecia z załączonych prac („The Significance of Angiotensin II Type 1 Receptor (AT₁ Receptor) in Renal Transplant Injury”) ma charakter pracy poglądowej i podsumowuje dotychczasową wiedzę na temat receptora dla angiotensyny II typu 1 oraz przeciwciał anti-AT₁-R w uszkodzeniu przeszczepionej nerki z uwzględnieniem badań własnych Doktorantki. Należy zaznaczyć, że jest to publikacja napisana w bardzo przystępny, przejrzysty i spójny sposób. Praca ta wskazuje także, jak ważne w dotychczasowej wiedzy dotyczącej omawianego tematu są opublikowane przez Doktorantkę badania własne.

Na podstawie otrzymanych wyników badań, po rzeczowej dyskusji zaprezentowanej w obu pracach oryginalnych, Doktorantka przedstawiła następujące zbiorcze wnioski:

1. Ekspresję receptorów w nabłonku cewkowym obserwowano u 26,3% (42/118) biorców nerki przeszczepionej.
2. Ekspresja receptorów typu 1 dla angiotensyny II w nabłonku cewkowym biopsji ze wskazań była związana z większą utratą narządów przeszczepionych.
3. Ekspresję receptorów w bioptatach wraz z obecnością przeciwciał w surowicy stwierdzono u 10,3% biorców.
4. Ekspresja receptorów AT₁ w biopsjach nerek oraz obecność przeciwciał anti-AT₁R w surowicy biorców wiązała się z istotnie wyższą utratą przeszczepów w pierwszym, drugim oraz trzecim roku obserwacji.
5. Wysoki odsetek utrat nerek przeszczepionych obserwowano u chorych z ekspresją receptorów AT₁ w mikrokrążeniu, co wiązało się z obecnością odrzucania zależnego od przeciwciał.
6. Analiza ekspresji receptora AT₁ w biopsji wraz z obecnością przeciwciał anti-AT₁R w surowicy powinna pozwolić na dokładniejszą ocenę ryzyka immunologicznego przeszczepu.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej lek Agnieszki Sas-Strózik udowadniają, że Doktorantka wykazuje się bardzo dobrą znajomością podejmowanego tematu. Metodyka prac oryginalnych, jak również dobrane metody służące analizie statystycznej były dobrane prawidłowo, a uzyskane wyniki nie budzą wątpliwości. Przedstawione powyżej wnioski wynikają w pełni z otrzymanych wyników.

Na odrębną uwagę zasługują niezwykła staranność i estetyka z jaką została przygotowana przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska.

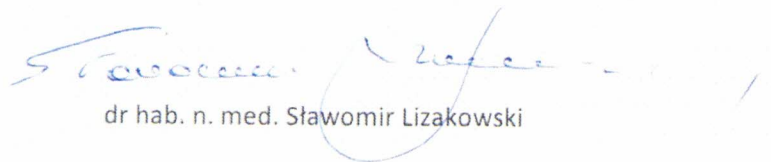
Moje zadanie jako recenzenta rozprawy doktorskiej było znacznie ułatwione z uwagi na to, że prace wchodzące w jej skład zostały wcześniej wnikliwie ocenione przez Recenzentów powołanych przez Redakcje czasopism umieszczonych na Liście Filadelfijskiej. Wobec tego ograniczę się do dwóch drobnych komentarzy, które nasunęły mi się w trakcie studiowania tejże rozprawy:

- Zamiast bardzo obszernych streszczeń (łącznie 9 stron), warto byłoby zamieścić nieco dłuższy wstęp będący wprowadzeniem do cyklu publikacji.
- Wnioski przedstawione po streszczeniach niepotrzebnie zwiększają ich objętość, tym bardziej, że są także zaprezentowane w odrębnym rozdziale stanowiącym podsumowanie pracy. W mojej ocenie nie powinny być tam przedstawiane.
- Analizując prace oryginalne zastawiałem się 9nie umniejszając randze Transplantation Proceedings), dlaczego Autorzy nie zdecydowali się na publikację tak ciekawych wyników w czasopismach o wyższym wskaźniku IF.

Wyżej wymienione uwagi, a raczej komentarze, w żadnej mierze nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej przeprowadzonych badań, znaczącej pracy włożonej przez Doktorantkę w zaplanowanie badań, przeprowadzenie analiz, obliczeń statystycznych i przygotowanie publikacji, jak również całości rozprawy doktorskiej. Doktorantka wykazała się szeroką wiedzą oraz dużą dojrzałością w zakresie przeprowadzania badań naukowych i analizowania uzyskanych wyników.

Stwierdzam zatem, że przedstawiona do recenzji rozprawa zatytułowana: „Znaczenie receptorów typu 1 dla angiotensyny II w odpowiedzi humoralnej po przeszczepieniu nerki” spełnia wszystkie kryteria określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.)

Zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Agnieszki Sas-Strózik do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wobec wysokiej wartości poznawczej rozprawy doktorskiej oraz łącznym IF składającej się na nią prac wynoszącym 3,138 występuję o wyróżnienie recenzowanej pracy.


dr hab. n. med. Sławomir Lizakowski