



Katowice, 12.09.2018 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Lek. Dominiki Klimczak-Tomaniak

pt.: „MicroRNA i chemokina CXCL12 jako biomarkery wystąpienia

powikłań sercowo-naczyniowych u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek”

Zgodnie z uchwałą Rady II Wydziału Lekarskiego o powołanie mnie na recenzenta mam zaszczyt przedstawić opinię powyższej pracy doktorskiej.

Oceniając rozprawę doktorską na stopień doktora nauk medycznych dokonałam jej charakterystyki w zakresie:

1. oceny merytorycznej,
2. metodologii pracy,
3. zastosowanych analiz statystycznych,
4. doboru i wykorzystania źródeł,
5. nowatorstwa ujęcia zagadnień badawczych i ich zastosowań klinicznych.

Ocena merytoryczna pracy

Rozprawa doktorska lek. Dominiki Klimczak-Tomaniak jest wynikiem badań będących przedmiotem zainteresowań naukowych Doktorantki. Praca doktorska stanowi cykl zwartych tematycznie trzech prac, dwóch oryginalnych i jednej pogładowej opublikowanych w prestiżowych czasopismach naukowych. Oryginalność i wartość naukowa tych prac została już wcześniej potwierdzona pozytywnymi ocenami wydanymi przez recenzentów czasopism, w których zostały opublikowane.

Sumaryczny wskaźnik oddziaływania prac /IF/ wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi: 7,26 , punktacja MNiSW 70 pkt.

Wykaz publikacji będących podstawą do sformułowania wniosku o nadanie stopnia doktora nauk medycznych:

1. Klimczak D et al. Plasma mikroRNA-155-5p is increased among patients with chronic kidney disease and nocturnal hypertension. J Am Soc. Hypertens. 2017, Dec: 11(12): 831- 841.
2. Klimczak-Tomaniak D et al . CXCL12 in Patients with Chronic Kidney Disease and Healthy Controls : Relationship to Ambulatory 24-Hour Blood Pressure and Echocardiographic Measures. Cardiorenal Med. 2018 /w druku/
3. Klimeczak D. et al . Regulatoty mechanism in arterial hypertension: role of mikroRNA in patophysiology and therapy. Blood Press . 2017, Feb : 26(1) 2-8.

Należy podkreślić, że Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich publikacjach.

Założeniem pracy było, że główną przyczyną zgonów wśród chorych z przewlekłą chorobą nerek są powikłania sercowo-naczyniowe. Powszechnie stosowane biomarkery takie jak: N –końcowy fragment propeptydu natriuretycznego typu B –NT-proBNP czy troponina sercowa mają mniejszą specyficzność w diagnostyce powikłań sercowo-naczyniowych w grupie chorych z przewlekłą chorobą nerek.

Zatem istnieje potrzeba zidentyfikowania bardziej czułych i specyficznych markerów pozwalających stratyfikację ryzyka pacjentów i kontrolę terapeutyczną.

W części oryginalnej pracy Autorka poddała ocenie dwa nowe biomarkery powikłań sercowo-naczyniowych u chorych z przewlekłą chorobą nerek /CKD/ związanych z układem renina-angiotensyna-aldosteron /RAA/. Analiza dotyczyła chemokiny /CXCL12/ będącej wykładnikiem aktywacji układu immunologicznego, która przy udziale mineralokortykoidów przyczynia się wzrostu ciśnienia tętniczego oraz wpływa na wzrost napływu limfocytów T do miokardium, wpływając na przerost mięśnia sercowego /LVH/. Drugim markerem analizowanym w pracy doktorskiej był tzw. mikroRNA inhibitor potranskrypcyjny ekspresji genu dla receptora typu 1 /AT1R/ dla angiotensyna II – hormonu odgrywającego ważną rolę w patogenezie nadciśnienia tętniczego.

Doktorantka stawia hipotezę, że mikroRNA może wywierać efekt antyhipertensyjny. Z drugiej strony poprzez działania plejotropowe takie jak zmniejszenie ekspresji genu dla syntazy tlenu azotu, wpływ prozapalny może mieć wpływ negatywny na wartość ciśnienia tętniczego. Ponadto nie ma obecnie badań klinicznych na organizmie ludzkim, które potwierdziły rolę mikroRNA-155-5p w patogenezie nadciśnienia tętniczego.

Badania poszukujące zależności układu RAA z układem immunologicznym oraz jego regulację na poziomie potranskrypcyjnej modyfikacji ekspresji genów u chorych z CKD mają niezwykle ważny kierunek badawczy. W świetle powyższych uwag podjęty przez Doktorantkę temat badawczy jest nowatorski i oryginalny, wpisuje się w nowoczesną diagnostykę i prewencję powikłań sercowo-naczyniowych u chorych z przewlekłą chorobą nerek.

Ocena metodologiczna pracy

Treść pracy odpowiada tematowi zawartemu w tytule.

Praca ma układ klasyczny, zawiera następujące rozdziały: Wykaz publikacji stanowiących część oryginalną pracy doktorskiej, Wykaz stosowanych skrótów, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wprowadzenie, Założenia i cele pracy, Metodologia badań, Kopie opublikowanych prac, Podsumowanie wyników, Dyskusja, Wnioski, Opinia Komisji Bioetycznej, Oświadczenia wszystkich współautorów publikacji określające ich indywidualny wkład w powstałe prace, Źródła finansowania, Piśmiennictwo.

Struktury podziału treści są prawidłowe i zgodne z zasadami pisania pracy doktorskiej. W Rozdziale „Wprowadzenie” Autorka zawarła istotne dane dotyczące ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych oraz opisała najważniejsze powikłania, nadciśnienie tętnicze i przerost mięśnia sercowego u chorych z przewlekłą chorobą nerek. W dalszej części wprowadza czytelnika w problem identyfikacji specyficznych biomarkerów wskazujących na zagrożenia sercowo-naczyniowe u tych chorych. Doktorantka sugeruje potrzebę zidentyfikowania nowych, czułych i specyficznych biomarkerów dla konkretnego powikłania, co może przelożyć się na strategię terapeutyczną.

Doktorantka prezentuje również aktualny stan wiedzy na temat roli układu immunologicznego w rozwoju powikłań sercowo-czynowych u chorych z przewlekłą chorobą nerek. Podkreśla istotną rolę układu immunologicznego w rozwoju nadciśnienia tętniczego co wiąże się ze wzrostem stężenia wielu cytokin, również Chemokiny CXCL12 regulującej migrację komórek. Konsekwencją jest przerost mięśnia serowego.

W podrozdziale o „roli mikroRNA w regulacji układu sercowo-naczyniowego” Autorka przytacza badania Liu T. et al. oraz Cheng W. et al. wskazujące, że miRNA-155-5p wpływa na procesy syntezy białek wchodzących w skład receptora typu I dla angiotensyny II. Doktorantka wysuwa hipotezę, że ekspresja miRNA-155-p5 potencjalnie hamującego ekspresję AT1R, może odgrywać rolę w regulacji ciśnienia tętniczego u chorych z CKD.

Powyższe dane naukowe zainspirowały Autorkę do podjęcia badań dotyczących związku układu RAA z układem immunologicznym oraz jego regulacje na poziomie potranskrypcyjnej modyfikacji genów.

Cele pracy zostały jasno sprecyzowane i zostały konsekwentnie zrealizowane w załączonych dwóch publikacjach oryginalnych oraz w 1 pracy poglądowej prezentującej aktualny stan wiedzy o roli mikroRNA w rozwoju nadciśnienia tętniczego i próbach terapii przeciwnadciśnieniowej z jego wykorzystaniem.

Material i Metoda

Część oryginalną rozprawy doktorskiej stanowi prospektywne, obserwacyjne badanie kliniczne, do którego włączono 105 pacjentów z CKD w stadium G1-G5wg. KDIGO, z wyłączeniem pacjentów hemodializowanych. Grupa badana jest reprezentatywna. Grupę kontrolną stanowili zdrowi ochotnicy.

W publikacji 1 u wszystkich chorych oznaczono ekspresję mikroRNA-155-5p metodą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym oraz U6 sn RNA /mały jądrowy DNA/ jako gen referencyjny. W grupie 90 pacjentów wykonano 24-godzinną rejestrację ciśnienia tętniczego

W publikacji 2 u 90 pacjentów badanej grupy oprócz ABPM, oznaczano stężenie chemokiny CXCL12 w surowicy z wykorzystaniem testu immunoenzymatycznego ELISA. U 27 chorych wyliczono wskaźnik przerostu mięśnia lewej komory przy użyciu badania echokardiograficznego.

Użyte Metody są nowoczesne, precyzyjne stosowane do badań naukowych jak i w niektórych Ośrodkach do celów diagnostycznych. Doktorantka powyższe badania przeprowadziła w Klinice Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i Zakładzie Niewydolności Serca i Rehabilitacji Kardiologicznej Katedry Kardiologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Wewnętrznych WUM, co gwarantuje jakość i wiarygodność prezentowanych wyników badań. Uzyskane dane zostały poddane właściwej analizie statystycznej i przedstawione w tabelach i na rycinach wraz z komentarzami w załączonych pracach.

W recenzowanej dysertacji doktorskiej po raz pierwszy u pacjentów z CKD Kandydatka dokonała analizy związku pomiędzy stężeniem chemokiny CXCL12 i ekspresją względną mikroRNA-155-5p w surowicy krwi a powikłaniami sercowo-naczyniowymi. Interesującym spostrzeżeniem wynikającym z badań własnych / praca nr 1/ w grupie pacjentów z CKD stadium 1-5 i u badanych po przeszczepieniu nerki było stwierdzenie istotnie wyższej ekspresji względnej miRNA-155-5p w osoczu w porównaniu do grupy osób zdrowych.

Ważną obserwacją było wykazanie wśród pacjentów z CKD /45% badanych/ z nocnym nadciśnieniem tętniczym znamiennej wyższej ekspresji miR-155-5p w porównaniu do chorych bez NHT, jednocześnie zachowując istotny związek ze średnim nocnym skureczowym ciśnieniem tętniczym. Badania te mogą wskazywać na udział cząsteczki miR-155-5p w patogenezie nadciśnienia tętniczego w tej populacji a głównie w zaburzeniach rytmu dobowego ciśnienia tętniczego.

Wyniki badań przedstawione w pracy nr 2 wskazują na istotnie wyższe stężenie chemokiny CXCL12 w surowicy pacjentów z CKD w porównaniu do osób zdrowych i istotnie wzrasta z pogorszeniem funkcji nerek wyrażonym obniżonym eGFR. Autorka wykazała istotną korelację pomiędzy chemokina CXCL12 a wiekiem, płcią męską, a przerostem mięśnia sercowego wyrażonym indeksem masy lewej komory /LVMI/.

Nowatorską obserwacją była odwrotna zależność pomiędzy badaną chemokina a szacowanym wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej.

Ważnym odkryciem Doktorantki w badaniu własnym było wykazanie, że podwyższone stężenie CXCL12 oraz istotny związek z LVH może wskazywać na właściwości toksyny mocznicowej tej chemokiny u chorych z przewlekłą chorobą nerek.

Opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych nowatorskie i oryginalne wyniki badań mają dużą wartość, gdyż mogą stanowić podstawę do strategii prewencyjnych jak i terapeutycznych w grupie chorych z przewlekłą chorobą nerek.

W pracy nr 3 Doktorantka na podstawie przeglądu aktualnego piśmiennictwa wskazała na udział mikroRNA w patogenezie nadciśnienia tętniczego, przedstawiła biogenezę mikroRNA, ich mechanizm w regulacji ciśnienia tętniczego, wraz ze wskazaniem potencjalnego zastosowania miR-503 i miR-204 w leczeniu nadciśnienia płucnego.

Rozdział: Dyskusja zawiera omówienie wyników prezentowanych w pracy doktorskiej, które Kandydatka porównuje z doniesieniami innych Autorów zamieszczonych w piśmiennictwie. Autorka przedstawia własne tezy badawcze i wskazuje na potrzebę kontynuowania badań na większej populacji. Dyskusja jest obszerna, interesująca, zawiera wiele informacji świadczących o dużej wiedzy Doktorantki.

Lek. Dominika Klimczak-Tomaniak krytycznie zaznacza, że powyższe doniesienia należy traktować jako wstępne z powodu małej liczebności badanej grupy, co mogło mieć wpływ na uzyskane zależności. Postuluje, że w następnych badaniach należałoby oceniać mikroRNA w egzosomach i mikropęcherzykach z oznaczeniem markerów specyficznych dla tych komórek. Jest to dowodem dużej dojrzałości poznawczej.

Pracę kończy 8 wniosków zawierających oryginalne obserwacje Doktorantki.

Piśmiennictwo liczy 139 pozycji, jest współczesne dobrze dobrane i właściwie cytowane.

Nowatorstwo ujęcia zagadnień badawczych i ich zastosowań klinicznych

Doktorantka w dysertacji doktorskiej podjęła próbę wskazania nowych specyficznych biomarkerów wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek. Cele pracy są oryginalne, ambitne, konsekwentnie zrealizowane.

Uzyskane wyniki badań oraz wnioski zawierają nowatorskie obserwacje. Posiadają dużą wartość naukową i znaczenie kliniczne w prognozowaniu powikłań jak i terapii.

Redakcja pracy

Praca napisana jest bardzo starannie, poprawnym językiem polskim z użyciem prawidłowej terminologii medycznej. Jako recenzent pragnę podkreślić duży wkład pracy

Doktorantki w wykonanie nowoczesnych badań naukowych, opublikowanie ich w prestiżowych czasopismach naukowych i opracowanie w formie dysertacji doktorskiej.

Wniosek końcowy

Dysertacja doktorska jest oryginalnym opracowaniem naukowym o istotnej wartości merytorycznej. Wnosi nowatorskie wartości poznawcze i kliniczne w nefrologii, kardiologii i hipertensjologii. Ważnym dokonaniem Doktorantki jest wskazanie potencjalnych biomarkerów mikroRNA i chemokiny CXCL12 wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych u chorych z przewlekłą chorobą nerek. Jest samodzielnym dorobkiem Doktorantki i spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim.

Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Dominiki Klimczak-Tomaniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnoszę do Wysokiej Rady II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. Dominiki Klimczak-Tomaniak.

Recenzowana praca jest oryginalnym opracowaniem naukowym o istotnej wartości merytorycznej, co potwierdza wskaźnik oddziaływania IF: 7,26, punktacja MNiSM 70 pkt. Przedstawia nowatorskie badania poznawcze i kliniczne w zakresie nefrologii i kardiologii. Należy docenić duży wkład pracy Doktorantki w realizację rozprawy doktorskiej.

Prof. dr hab. n. med.

Ewa Żukowska-Szczechowska



Śląska Wyższa Szkoła Medyczna

Wydział Ochrony Zdrowia

Katowice ul. Mickiewicza 29