

Gdańsk 06.06.2022

**OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
NA STOPIEŃ NAUKOWY DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH I NAUK O ZDROWIU
W DYSCYPLINIE NAUKI MEDYCZNE
lek med. Andrzeja Kuleszy
z tytułowanej: **Tętniaki śródczaszkowe u osób z autosomalnie dominującą
wielotorbielowatością nerek po przeszczepieniu nerki****

Do oceny przedłożono rozprawę doktorską, którą stanowi liczący siedemdziesiąt stron manuskrypt. Do wglądu dostarczono również zgodę Komisji Bioetycznej oraz informację o źródłach finansowania. Zamieszczono również informację, że prezentowane wyniki zostały częściowo opublikowane w latach 2020-21 w pracach o sumarycznym współczynniku oddziaływania (IF) 4,898.

Autosomalnie dominująca wielotorbielowatość nerek (ADPKD) jest najczęstszą chorobą genetyczną nerek, występuje z częstością 1:400-1000 w populacji ogólnej. U około 70% chorych w średnim wieku 58 lat dochodzi do rozwoju przewlekłej niewydolności nerek. ADPKD jest czwartą najczęstszą przyczyną terapii nerkozastępczej na świecie. W Polsce chorzy na ADPKD stanowią 8% pacjentów leczonych nerkozastępczo dializami. Chorzy na ADPKD należą do jednych z częściej kwalifikowanych do przeszczepienia nerek a czasami również wątroby. Około 10% biorców nerki to chorzy na ADPKD. Objawy ADPKD nie są ograniczone jedynie do nerek, a spośród licznych pozanerkowych manifestacji choroby na szczególne

wyróżnienie zasługują tętniaki wewnątrzczaszkowe (IA), ponieważ ich występowanie wiąże się z ryzykiem krwotoku podpajęczynówkowego z jego konsekwencjami. Nie jest znana epidemiologia tętniaków u chorych na ADPKD po transplantacji nerki, a badania przesiewowe za pomocą najbardziej polecanej angiografii rezonansu magnetycznego są zalecane jedynie w wybranych grupach chorych na ADPKD.

W pełni uzasadnione jest zatem przeprowadzenie przez Doktoranta badań, których celem była ocena epidemiologii IA oraz poszukiwanie biomarkerów IA w grupie chorych na ADPKD po transplantacji nerki. Doktorant starał się również określić profil ryzyka występowania IA w tej grupie pacjentów.

Ocena rozprawy doktorskiej

Manuskrypt stanowiący rozprawę doktorską ma typowy układ i składa się z on z 7 zasadniczych rozdziałów: wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Dołączony jest również wykaz skrótów, spis rycin (6) i tabel (2).

Wstęp liczy 27 stron i podzielony jest na 11 podrozdziałów, w których Doktorant ze znajomością tematu i w oparciu o piśmiennictwo omawia aktualną wiedzę na temat patogenezę, rozpoznania, przebiegu i leczenia ADPKD. Zwraca uwagę na pozanerkowe formy ADPKD, w tym szczególnie IA. Dyskutuje uznane w populacji ogólnej oraz u chorych na ADPKD czynniki ryzyka IA. Podkreśla, że w grupie chorych na ADPKD największe znaczenie ma wywiad rodzinny krewnych 1 stopnia z tętniakiem lub krwawieniem podpajęczynówkowym. Wśród chorych na ADPKD 40% ma dodatni wywiad rodzinny co różni tę grupę od populacji ogólnej, gdzie 10% ma wywiad rodzinny IA. Do pęknięcia tętniaka dochodzi zazwyczaj u osób młodszych i rokowanie jest gorsze niż w populacji ogólnej. Autor opisuje badania przesiewowe w kierunku IA oraz opisuje znane w populacji ogólnej biomarkery IA. Podkreśla, że badania przesiewowe wykonywane są jedynie w grupach ryzyka i nie pozwalają na wykrycie

IA u wszystkich chorych na ADPKD. Zwraca tym samym uwagę na znaczenie podjętych badań. Temat mikro RNA (miRNA) jako biomarkeru IA rozwija w kolejnym podrozdziale wstępu. Podwojenie miRNA-16 należącego do miRNA w osoczu świadczy o 50% zwiększeniu ryzyka IA w populacji ogólnej. Autor wspomina również o miRNA-25 jako drugim potencjalnym markerze IA w populacji ogólnej. W podrozdziale dotyczącym IA u chorych na ADPKD w schyłkowej fazie niewydolności nerek Autor przytacza pozycje z piśmiennictwa, w których zwracano uwagę na ADPKD jako czynnika ryzyka wystąpienia IA oraz krwawienia śródczaszkowego u chorych dializowanych oraz po transplantacji nerki. W ostatnim podrozdziale wstępu Doktorant wskazuje na celowość podjętych badań. Podkreśla, że nie były one wcześniej prowadzone w grupie chorych na ADPKD leczonych nerkozastępczo, szczególnie po transplantacji nerki.

W opinii recenzenta ta część pracy potrafi zainteresować czytającego i wprowadzić do dalszych etapów rozprawy, którymi są założenia i cele pracy.

Wynikają one z treści omówionych we wstępie pracy. Autor postawił sobie za cel określenie częstości występowania IA, poszukiwanie klinicznych czynników ryzyka IA oraz potencjalnych biomarkerów IA u chorych na ADPKD po przeszczepieniu nerki.

Rozdział Materiał i metody składa się z 9 podrozdziałów i zawiera charakterystykę badanej grupy chorych oraz grupy kontrolnej. Grupę badaną (N=66) zidentyfikowano wśród 2 500 pacjentów po przeszczepieniu nerki będących pod opieką poradni transplantacyjnej w latach 2015-2019, którzy wyrazili zgodę na udział w badaniu. Po włączeniu do badania wykonano angiografię rezonansu magnetycznego mózgu (RM) oraz pobrano krew na badania laboratoryjne. Ekspresja miRNA-16 i miRNA-25 była ustalana przy zastosowaniu metody reakcji łańcuchowej polimerazy. Autor szczegółowo opisuje zastosowane metody izolacji RNA oraz ich analizę. Porównano ekspresję miRNA-16 i miRNA-25 pomiędzy grupami osób z IA i bez IA. Analiz

statystycznych dokonano przy użyciu oprogramowania Statistica, wersja 12.5. Rozdział ten jest opracowany starannie.

Uwaga recenzenta: w tytule rozdziału Autor wspomina o grupie kontrolnej, której w tym rozdziale nie znalazłam. Chyba, że stanowią ją pacjenci bez IA chorzy na ADPKD. Aczkolwiek cały czas zaliczani są oni do grupy badanej.

Rozdział Wyniki zawiera charakterystykę grupy badanej (szczegółowo zaprezentowana w tabeli 1), lokalizację tętniaków (rycina 1), analizę czynników ryzyka (ryciny 2-4), oraz ekspresję miRNA-16 i 25 (tabela 2). W badaniu zidentyfikowano 18 tętniaków u 15 chorych na ADPKD (22,7%). Na podkreślenie zasługuje w tym miejscu znaczenie tej diagnostyki, ponieważ 8 z tych chorych zostało zakwalifikowanych do zabiegu neurochirurgicznego. Autor wykazał, że czynnikami ryzyka IA u chorych na ADPKD był wskaźnik masy ciała (BMI), występowanie bólów głowy, występowanie zaburzeń lipidowych oraz krótszy czas jaki upłynął od operacji przeszczepienia nerki, a także krótszy czas zimnego niedokrwienia. Zaobserwował również istotne statystycznie różnice pomiędzy ekspresją miRNA-16 u pacjentów, u których wykryto IA a grupą, u której tętniaki nie występowały. Stężenie miRNA-16 było statystycznie niższe u chorych z IA.

Rozdział jest opracowany przejrzysto i nie przetadowany analizami wyników badań.

Kolejny rozdział to Dyskusja, liczy on 6 stron. Omawiając uzyskane wyniki Autor wykazał się umiejętnością analizy uzyskanych wyników w odniesieniu do danych publikowanych przez innych autorów. Dyskusja jest napisana ciekawie i ze znajomością tematu. Doktorant cytuje w niej wiele pozycji z piśmiennictwa. Autor szczegółowo wprowadza czytelnika w zagadnienia dotyczące występowania IA i związanego z tym ryzyka jego pęknięcia u chorych na ADPKD leczonych nerkozastępczo, w tym po transplantacji. Autor wykazał w swoich badaniach występowanie tętniaków u 22,7% przebadanych chorych na ADPKD. Biorąc pod uwagę dużą liczbę biorców nerki chorych na ADPKD może to stanowić problem

kliniczny. Odsetek ten jest wyższy niż u innych badaczy, ale prawdopodobnie związany ze starszym wiekiem badanych chorych oraz doborem grupy badanej, co Autor dyskutuje krytycznie w jednym z poniższych rozdziałów. Zdecydowana większość rozpoznanych przez Doktoranta tętniaków IA była położona w przednim krążeniu mózgowym i miała średnicę poniżej 10 mm. Autor w tej części pracy analizuje swoje wyniki w odniesieniu do danych z piśmiennictwa opisując ryzyko pęknięcia IA w zależności od lokalizacji oraz wielkości.

Z recenzenckiej ciekawości chciałabym spytać, czy u chorych zakwalifikowanych do zabiegów neurochirurgicznych zabiegi te się odbyły i jakie były ich wyniki.

W dalszej części dyskusji Autor analizuje uzyskane wyniki dotyczące czynników ryzyka IA w odniesieniu do danych z piśmiennictwa. Uzyskane wyniki dotyczące związku IA z bólami głowy idą w parze z dotychczasowymi zaleceniami wykonania badań obrazowych w kierunku IA u takich chorych. Autor dyskutuje również inne uzyskane korelacje w kontekście danych z piśmiennictwa, również te które się z nimi nie pokrywają.

Doktorant dyskutuje uzyskane wyniki w odniesieniu do obecnych zaleceń dotyczących badań przesiewowych w populacji chorych na ADPKD, w tym zaleceń KDIGO. Te ostatnie kładą nacisk na niepewne wskazania do badań przesiewowych oraz wskazują na indywidualne podejście do implementowania badań obrazowych. Badania Autora korespondują bardzo ze Stanowiskiem Grupy Roboczej Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego dostępnym na stronie Towarzystwa od 2021 roku „Zasady postępowania z chorymi na autosomalnie dominującą wielotorbielowatość nerek – zalecenia grupy roboczej PTT”, zgodnie z którymi badanie angio-MRI mózgowia powinno być rozważone u każdego potencjalnego biorcy przeszczepu nerki z ADPKD, czyli u chorych w schyłkowym stadium przewlekłej choroby nerek.

Autor na podstawie swoich wyników wskazuje, że badania przesiewowe mogą być szczególnie ważne u chorych z nadwagą lub otyłością, zgłaszających bóle głowy oraz dotkniętych zaburzeniami gospodarki lipidowej.

Poza epidemiologią i czynnikami ryzyka AI, Doktorant starał się wykazać znaczenie biomarkerów występowania IA u chorych na ADPKD. Dyskutuje swoje wyniki w kontekście uzyskanych wcześniej w populacji ogólnej z IA. Autor, jak wcześniej wspomniano wykazał, że rzeczywiście ekspresja miRNA-16 w surowicy pacjentów z ADPKD po przeszczepieniu nerki różni się pomiędzy grupami pacjentów z IA i bez nich, ale w przeciwieństwie do innych autorów w badaniach Doktoranta obserwowano zmniejszoną ekspresję u chorych z IA. Autor sugeruje odmienną patogenezę IA w ADPKD w porównaniu z populacją ogólną i wzięcie pod uwagę, że ewentualne biomarkery dla IA mające zastosowanie w populacji ogólnej mogą nie sprawdzić się w populacji chorych z ADPKD po przeszczepieniu nerki.

Dyskutując swoje wyniki Autor wykazuje się znajomością piśmiennictwa i dystansem do tego co uzyskał.

W dysertacji zamieszczono także rozdział pt. ograniczenia badania, zwracając uwagę na małą grupę chorych biorących udział w badaniu, konieczność potwierdzenia wyników w większej grupie chorych oraz tylko niektóre wzięte pod uwagę cechy jako potencjalne czynniki ryzyka występowania IA, a także charakterystykę grupy chorych mogącą wpływać na uzyskane wyniki.

Autor sformułował 3 wnioski.

Uwagi do wniosków:

Wniosek 1.

W opinii recenzenta we wniosku nie powinno podawać się wyników oraz stwierdzeń Doktoranta - cytuję: „Częstość występowania IA w grupie pacjentów z ADPKD po przeszczepieniu nerki wynosi 22,7%. Ze względu na względnie dużą częstość występowania IA w tej populacji uważam, że grupa ta powinna podlegać okresowym badaniom przesiewowym w kierunku IA”.

Lepiej brzmi „Stwierdzona w przeprowadzonym badaniu duża częstość występowania IA w grupie pacjentów z ADPKD po przeszczepieniu nerki wskazuje wyraźnie na zasadność wykonywania badań przesiewowych w kierunku IA”.

Wniosek 2.

Ponownie pada stwierdzenie „uwzględnić”

„Do klinicznych czynników ryzyka rozwoju IA w grupie pacjentów z ADPKD po przeszczepieniu nerki należą: zwiększony wskaźnik masy ciała i dyslipidemia. Ponadto, bóle głowy mogą być objawem IA, ponieważ występują częściej u osób z IA, niż u osób bez IA. Uważam, że osoby z tymi zaburzeniami powinny podlegać badaniom obrazowym w kierunku IA w pierwszej kolejności.

Wniosek 3.

3. Mikro RNA-16 jest potencjalnym biomarkerem IA w badanej grupie pacjentów. Zastosowanie kliniczne miRNA-16 jako biomarkera IA u osób z ADPKD wymaga weryfikacji w dalszych badaniach

Pytanie do Doktoranta: czy nie uważa, że wniosek jest na wyrost, ponieważ wykazano odwrotnie niż w populacji ogólnej niższą wartość miRNA-16 w badanej grupie chorych na ADPKD. Być może ocena badanych biomarkerów u chorych na ADPKD z i bez IA na wcześniejszych etapach niewydolności nerek wyjaśni znaczenie tej obserwacji.

Kolejny rozdział to Piśmiennictwo: składa się ze 134 aktualnych, dobrze dobranych i właściwie cytowanych pozycji.

Manuskrypt zawiera również Streszczenia w języku polskim i angielskim.

Wyniki zamieszczone w manuskrypcie są opublikowane w następujących pracach:

1. Kulesza AW, Gradzik M, Kulesza A, Gołębiowski M, Pączek L, Niemczyk M. Intracranial Aneurysms in Renal Transplant Recipients With Autosomal Dominant Polycystic Kidney

Disease. Polish Archives of Internal Medicine. 2020; 130(12): 1111- 1113. **100 pkt. MNISW, IF 3,277**

2. Kulesza AW, Kulesza A, Fliszkiewicz M, Łabuś A, Pączek L, Niemczyk M. miRNA- 16 as a predictive factor for intracranial aneurysms in autosomal dominant polycystic kidney disease. Polish Journal of Neurology and Neurosurgery. 2021; 55(3): 306-309. **100 pkt. MNISW, IF 1,621**

Manuskrypt zawiera również wyniki nie opublikowane w ww. pracach.

Podsumowując uważam, że przedstawiona do recenzji dysertacja jest dobrze zaplanowana, skrupulatnie przeprowadzona i starannie napisana. Dysertacja prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydata w dyscyplinie nauki medyczne oraz dowodzi umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Uzyskane przez Autora wyniki poszerzają dotychczasową wiedzę na temat znaczenia diagnostyki śródczaszkowych tętniaków u chorych na ADPKD po transplantacji nerki. W mojej opinii przedstawiona rozprawa lek. med. Andrzeja Kuleszy spełnia warunki określone określone w art. 13 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 art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.), toteż zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie **lek. med. Andrzeja Kuleszy** do dalszych etapów postępowania.



Prof. dr hab. Alicja Dębska-Ślizień

Kierownik Katedry i Kliniki Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych
Gdański Uniwersytet Medyczny