



Gdańsk, 16.05.2022

dr hab. n. med. Magdalena Jankowska  
Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii  
i Chorób Wewnętrznych  
Wydział Lekarski  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
ul. Smoluchowskiego 17, 80-214 Gdańsk

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Magdy Fliszkiewicz  
pt.: „Wybrane zaburzenia metaboliczne u osób z autosomalnie dominującą wielotorbielowatością  
nerek” napisanej pod kierownictwem naukowym dr hab. n. med. Mariusz Niemczyka

Autosomalnie dominująca wielotorbielowatość nerek (ADPKD) jest najczęstszą chorobą genetyczną nerek, a także jedną z czterech najczęstszych przyczyn schyłkowej niewydolności nerek na świecie. Wbrew temu, co sugeruje jej nazwa, ADPKD jest chorobą ogólnoustrojową, nie ograniczającą się do zajęcia nerek. Ten systemowy charakter ADPKD jest najprawdopodobniej konsekwencją rozpowszechnienia w tkankach ludzkiego organizmu ekspresji produktów genów *PKD1* i *PKD2*, jakim są polycystyny. Niedobór tych białek wpływa na szereg funkcji komórki upośledzając m.in. jej dojrzewanie, polarność oraz odbieranie bodźców, szczególnie mechanicznych. Wiadomo, że polycystyny odgrywają także rolę w tworzeniu połączeń międzykomórkowych i regulacji matrix międzykomórkowego. W tym kontekście nie dziwi mnogość manifestacji pozanerkowych choroby. Klasycznie zaliczane są do nich torbielowatość wątroby, trzustki, śledziony i pajęczynówki, skłonność do powstawania tętniaków i przepuklin, powikłania kardiologiczne, niepłodność męska oraz predyspozycja do rozwoju wewnątrzprzewodowego brodawkowo-śluzowego nowotworu trzustki (IPMT). Znacznie mniej

wiadomo o powikłaniach metabolicznych ADPKD, chociaż wiele z nich należy do klinicznego spektrum choroby. Z dotychczasowych obserwacji wynika, że ADPKD wiąże się z odmiennym metabolizmem m.in. glukozy, lipidów, kwasu moczowego oraz fosforanów, jednak molekularny mechanizm tych zaburzeń jest niedostatecznie poznany. Badania w tym zakresie mają ogromne znaczenie, gdyż poza walorami poznawczymi przyczynić się mogą bezpośrednio do poprawy opieki nad pacjentami z ADPKD, m.in. poprzez zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego w tej chorobie.

Temat przedstawionej mi do recenzji rozprawy pani lek. Magdy Fliszkiewicz jest bardzo aktualny. Doktorantka podjęła się badań nad zaburzeniami gospodarki węglowodanowej w różnych stadiach zaawansowania ADPKD, ale także postawiła sobie za cel ocenę przydatności ocenianych parametrów w prognozowaniu ryzyka metabolicznego oraz szybkości progresji choroby. Ten ostatni element badań wpisuje się w powszechny nurt poszukiwań biomarkerów prognostycznych w ADPKD, które mogłyby zostać wykorzystane w personalizacji opieki nad pacjentami z tą chorobą. Podjęcie takiej tematyki jest trafne i świadczy o doskonałej znajomości aktualnych trendów badawczych w wiodących ośrodkach zajmujących się ADPKD.

Przedłożona do recenzji praca liczy 68 stron i składa się z typowych dla rozprawy doktorskiej rozdziałów: wstępu, założeń i celu pracy, materiału i metod, wyników, dyskusji, wniosków oraz wykazu piśmiennictwa. Praca zawiera ponadto streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści, spis rycin oraz wykaz skrótów. Na końcu pracy umieszczono dokumentację uzyskania zgody na przeprowadzenie badań wydanej przez Komisję Bioetyczną przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. Struktura rozprawy jest poprawna, a opracowanie przejrzyste i bardzo staranne.

We wstępie, liczącym dziesięć stron, doktorantka nakreśliła obecny stan wiedzy na temat patogenezы ADPKD, a także przedstawiła kryteria rozpoznania choroby, jej przebieg, objawy oraz leczenie. Wiedza ta została przedstawiona w sposób syntetyczny, rzeczowy i świadczący o dobrej znajomości tematu. Następnie doktorantka skupiła się na zasadniczym przedmiocie badań, którym są zaburzenia metaboliczne w ADPKD. W tej części pracy autorka uwzględniła jedynie problematykę zaburzeń w gospodarce węglowodanowej. Zagadnienie to zostało omówione bardzo wszechstronnie, uwzględniając, co warte jest podkreślenia, także doświadczenia własne ośrodka, w którym praca powstała. Zgadzam się z takim ujęciem tematu, gdyż zarówno z punktu widzenia nauk podstawowych

jak i klinicznych, przytłaczająca liczba dowodów wskazuje na szczególny związek pomiędzy ADPKD a właśnie gospodarką węglowodanową.

Ostatnia część wstępu poświęcona jest opisowi końcowych produktów glikacji (AGEs) oraz niekodujących cząsteczek mikroRNA (miRNA), jako że właśnie te molekuły zostały zaproponowane przez autorkę jako potencjalne biomarkery ryzyka metabolicznego i progresji ADPKD. Doktorantka uzasadniła wybór miRNA-17, miRNA-21 oraz miRNA-361 powołując się na literaturę z dziedziny nauk podstawowych. Uważam, że wybór potencjalnych biomarkerów progresji i ryzyka metabolicznego jest poprawny i został uzasadniony dowodami wskazującymi na związek tych molekuł z patofizjologią choroby. Wstęp wskazuje na dobre przygotowanie merytoryczne autorki i potwierdza znajomość literatury w przedmiocie podjętych badań.

Doktorantka sformułowała dwa główne cele pracy. Pierwszym była ocena charakteru zaburzeń gospodarki węglowodanowej wśród pacjentów z ADPKD na różnym etapie zaawansowania choroby, z uwzględnieniem biorców przeszczepu nerki. Kolejnym było poszukiwanie możliwych markerów progresji przewlekłej choroby nerek i rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej, jakimi mogłyby być AGEs oraz miRNA. Celami szczegółowymi pracy były:

1. Ustalenie czy ADPKD towarzyszą zaburzenia sekrecji insuliny lub insulinooporności oraz czy mają one związek ze stadiem zaawansowania przewlekłej choroby nerek.
2. Ocena czy stężenie AGEs w surowicy i moczu jest większe w ADPKD, w porównaniu z grupą kontrolną oraz czy koreluje z obecnością zaburzeń sekrecji insuliny i stadiem zaawansowania przewlekłej choroby nerek. Ocena czy AGEs w surowicy i moczu mogą być markerami progresji choroby nerek.
3. Ocena czy zawartość AGEs w skórze koreluje ze stężeniami AGEs w moczu i krwi oraz czy ich zawartość w skórze jest większa u osób z ADPKD w porównaniu z grupą kontrolną. Ocena czy zawartość AGEs w skórze może być predyktorem progresji choroby nerek.
4. Poszukiwanie potencjalnych markerów progresji przewlekłej choroby nerek w ADPKD, jakimi są miRNA-17, miRNA-21, miRNA-361 oraz ocena czy ich obecność koreluje z zaburzeniami metabolizmu węglowodanów.

Doktorantka zaplanowała włączenie do badania 90 pacjentów, jednak ostatecznie zrekrutowała 84 osoby, w tym 59 do grupy ADPKD oraz 25 do grupy kontrolnej. Protokół badania został wzbogacony

o element prospektywny, gdyż po 3 latach obserwacji dokonano ponownej oceny zaawansowania przewlekłej choroby nerek oraz zebrano dane o rozpoczęciu dializoterapii, o transplantacji nerki i zgonach.

Autorka zaproponowała bardzo wszechstronną metodologię oceny zaburzeń gospodarki węglowodanowej, obejmującą stężenie insuliny na czczo, stężenie peptydu C, HbA1c, wyliczenie HOMA-IR i CPI oraz badanie AGEs w surowicy, moczu oraz skórze. W celu realizacji ostatniego celu szczegółowego dokonano izolacji miRNA-17, miRNA-21 oraz miRNA-361 w moczu. Procedury badawcze zostały niezwykle precyzyjnie opisane na 12 stronach tekstu wzbogaconego o własną dokumentację zdjęciową. Nie ma wątpliwości, że na podstawie tego opisu możliwe byłoby powtórzenie badań w innej populacji chorych. Nie mam zastrzeżeń do wyboru metod analizy statystycznej.

Wyniki stanowią najobszerniejszą, obejmującą 18 stron część rozprawy. Układ tego rozdziału odpowiada zaplanowanym celom szczegółowym pracy. Cenne jest, że poza opisem doktorantka przedstawiła też bogatą prezentację graficzną uzyskanych wyników. Najważniejsze poczynione przez autorkę obserwacje to:

- brak istotnych różnic pomiędzy grupą badaną i kontrolną w stężeniu glukozy i insuliny na czczo oraz wskaźnika HOMA-IR.
- wyższe wartości stężenia C – peptydu na czczo, CPI oraz HbA1c w grupie ADPKD
- brak istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupą badaną i kontrolną w stężeniu AGEs w moczu
- brak zależności pomiędzy AGEs a stężeniem glukozy, insuliny, C-peptydu, HbA1c oraz wskaźnikiem HOMA-IR i CPI, a także dynamiką progresji przewlekłej choroby nerek
- brak różnicy pomiędzy grupą badaną i kontrolną w autofluorescencji AGEs w skórze
- brak różnic w ekspresji genów miR-17, miR-21 oraz miR-361 pomiędzy grupami badaną i kontrolną

W krótkiej, sześciostronicowej dyskusji doktorantka dokonała krytycznej analizy uzyskanych wyników i wskazała implikacje praktyczne wynikające z przeprowadzonych badań. Ciekawe z punktu widzenia klinicznego jest znalezienie dodatniej korelacji pomiędzy miR-17 oraz stężeniem insuliny na czczo oraz wskaźnikiem HOMA – IR, co według autorki może być przesłanką do wykorzystania miR-17

jako czynnika prognostycznego rozwoju zaburzeń metabolicznych w ADPKD. Autorka słusznie wskazuje na zwiększone ryzyko oraz konieczność profilaktyki zaburzeń gospodarki węglowodanowej u chorych z ADPKD, szczególnie w okresie potransplantacyjnym. W dyskusji oczekiwałabym jednak bardziej obszernego skonfrontowania wyników własnych z dostępnymi danymi literaturowymi. Ta część rozprawy pozostaje w pewnej dysproporcji objętościowej względem pozostałych rozdziałów.

Na podstawie przeprowadzonych badań, doktorantka sformułowała cztery wnioski odpowiadające postawionym celom szczegółowym.

Piśmiennictwo obejmuje 97 pozycji, jest aktualne i prawidłowo dobrane.

Uwagi krytyczne:

W definicji progresji przewlekłej choroby nerek nie podano wielkości spadku eGFR, który uznano za progresję przewlekłej choroby nerek w okresie 3 lat. Z opisu można domniemywać, że za progresję uznawano każdy spadek eGFR, co nie jest zgodne z powszechną praktyką. W pracy stwierdzono znamienne różnice w progresji przewlekłej choroby nerek pomiędzy grupą kontrolną i badaną, ale nie podano ani wartości kreatyniny, ani  $\Delta$ eGFR dla tych grup. Moja uwaga wynika z faktu, że zazwyczaj to ADPKD jest chorobą o najwolniejszej progresji w porównaniu z innymi nefropatiami, czego nie potwierdzają uzyskane w pracy wyniki.

Druga uwaga dotyczy implikacji praktycznych, w których autorka dwukrotnie podkreśla szczególną rolę metforminy. Zgadzam się z tą opinią, jednak formułując zalecenia dla lekarzy praktyków należałoby zrobić zastrzeżenie, że doustna dawka maksymalna metforminy u ludzi jest najprawdopodobniej zbyt mała, aby uzyskać aktywację szlaku AMPK w nerce, a tolerancja leku po transplantacji bywa ograniczona jego profilem działań niepożądanych.

Po trzecie, część pierwszego wniosku (cytuje: „To pozwala domniemywać, że insulinooporność odgrywa rolę w ADPKD, co mogłoby być wykazane przy większej liczebności grup.”) nie jest w pełni uzasadniona przedstawionymi wynikami, dlatego to sformułowanie proponuję pozostawić w dyskusji.

Z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć też o kilku drobnych usterkach.

Nazwy genów w piśmiennictwie naukowym przyjęto pisać kursywą. Takiej czcionki należałoby więc użyć pisząc o genach *PKD1* i *PKD2*.

Ryciny 2, 4, 5, 6, 7, 8 i 9 zostały podpisane jako rysunki własne, podczas, gdy należałoby nazwać je fotografiami własnymi.

Tabela 6 (Średnie stężenia AGEs w moczu w poszczególnych grupach) jest niekompletna.

Wszystkie wyrazy wchodzące w skład tytułów cytowanych czasopism należy pisać wielkimi literami.

Powyższe sugestie i uwagi krytyczne nie zmieniają mojej bardzo pozytywnej opinii o pracy. Doktorantka wykazała się umiejętnością postawienia aktualnej i ważnej hipotezy badawczej, sumiennym i wszechstronnym podejściem do jej testowania oraz kompetencjami w zakresie nowoczesnego warsztatu badawczego, interpretacji wyników i formułowania wniosków. Fakt, że uzyskane wyniki nie pozwoliły na potwierdzenie wszystkich założeń pracy, nie umniejsza wartości rozprawy. Zrekrutowanie dużej grupy dobrze scharakteryzowanych fenotypowo pacjentów jest zadaniem trudnym i kosztownym. Liczebność populacji badanej nie odbiega tutaj znacząco od liczebności grup w wielu innych jednośrodkowych badaniach na temat ADPKD.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa Lek. Magdy Fliszkiewicz pt.: „Wybrane zaburzenia metaboliczne u osób z autosomalnie dominującą wielotorbielowatością nerek” jest opracowaniem samodzielnym, oryginalnym i wartościowym oraz spełnia warunki 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.). Wobec powyższego wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Magdy Fliszkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

