

Akceptuję  


Kraków, 27 czerwca 2023

## Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Aleksandry Starzyńskiej-Kubickiej pt. „Ocena czynników prognostycznych nefropatii błoniastej”

Glomerulopatia błoniasta należy do najważniejszych przyczyn zespołu nerczycowego, jest rozpoznaniem często spotykanym i zazwyczaj nie sprawia większych trudności patomorfologowi. Równocześnie w ostatnich kilkunastu latach poczyniono szereg odkryć dotyczących przyczyny tej choroby. Przebieg kliniczny glomerulopatii błoniastej bywa różny i w części przypadków obserwuje się rozwój przewlekłej niewydolności nerek. W związku z tym zagadnienie czynników rokowniczych w glomerulopatii błoniastej jest interesujące i zasługuje na uwagę.

Praca powstała w Katedrze Patomorfologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Agnieszki Perkowskiej-Ptasińskiej, czołowego polskiego eksperta w dziedzinie nefropatologii i postaci doskonale rozpoznawalnej w europejskim i światowym środowisku patologów zajmujących się diagnostyką biopsji nerek.

Praca ma postać rozprawy, wraz z dodatkami liczy 129 stron i ma typowy układ. Główny tekst liczy 5 rozdziałów. Pracę opatrzone spisem treści, spisem fotografii, tabel i rycin, wykazem użytych skrótów oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim. Streszczenia dobrze oddają treść pracy, chociaż obecne są drobne literówki. Tekst angielski jest poprawny pod względem językowym.

Dodatkowo w tekście rozprawy skróty są poprawnie rozwijane; można się jedynie zastanawiać, czy użycie skrótów innych niż powszechnie znane ma sens przy tej formie pracy; oczywiście w druku ograniczenie długości tekstu jest istotne, podobnie w przeszłości, kiedy rozprawy naukowe były pisane na maszynie przynosiło to pewną oszczędność, jednak obecnie zmniejsza to jedynie czytelność tekstu i według recenzenta jest niepotrzebne. Do rozprawy dołączono oświadczenie Komisji Bioetycznej, zgodnie z którym badanie zostało do Komisji zgłoszone, ale nie podlega opiniowaniu jako niestanowiące eksperymentu medycznego. Na początku tekstu znajdują się obszernie podziękowania, w których jednak nie znalazło się miejsce dla pracowników technicznych Katedry Patomorfologii; wszyscy patolodzy powinni pamiętać jak wiele w naszej pracy od zależy ich umiejętności i pracowitości.

We „**Wstępie**” Autorka podaje dane epidemiologiczne i szczegółowo opisuje historię badań nad patogenezą glomerulopatii błoniastej. Jest to część pracy bardzo interesująca i dobrze napisana, chociaż Doktorantka nie ustrzegła się drobnych potknięć – w niektórych akapitach odwołania bibliograficzne umieszczono w ten sposób, że nie wiadomo skąd pochodzą cytowane dane. Stwierdzenie, że wtórna glomerulopatia błoniasta może wynikać z ‘toksyczności leków’ (pierwszy akapit wstępu) jest niezręczne, lepiej byłoby napisać o nieoczekiwanej reakcji na lek. Kiedy autorka pisze „wykazano, iż w przypadku genów: *HLA-DQ* i *PLA2R*, homozygotyczna ekspresja pewnych ich wariantów zwiększa ryzyko zachorowania...” aż prosiłoby się, żeby te warianty wymienić (choć oczywiście dla recenzowanej pracy jest to sprawa marginalna). Dalej Doktorantka omawia morfologię glomerulopatii błoniastej. Część zdjęć zamieszczonych we wstępie ma gorszą jakość i niski kontrast (np. fot. 3), podczas gdy inne są bardzo dobre. W wypadku publikacji pracy z pewnością będzie trzeba wymienić część dokumentacji fotograficznej. Brakuje także materiału ilustracyjnego z innych barwień (HE, paS); oczywiście takie zdjęcia nie wniosłyby nic istotnego do meritum, jednak z uwagi na to, że Doktorantka omawia w tym miejscu morfologię glomerulopatii błoniastej pozostaje pewien niedosyt. Bardzo ciekawe i wartościowe jest omówienie cech odróżniających pierwotną i wtórną glomerulopatię błoniastą. Dalej Autorka omawia obraz kliniczny i czynniki rokownicze w glomerulopatii błoniastej, a następnie przyczyny występowania białkomoczu, aby powrócić do omawiania postępowania leczniczego. Moim zdaniem taka kolejność nie jest właściwa, logiczniej byłoby mechanizmy powstawania białkomoczu opisać łącznie z rozważaniami etiologicznymi, a temat leczenia powinien następować bezpośrednio po obrazie klinicznym. Wstęp kończy omówienie występowania glomerulopatii błoniastej w nerce przeszczepionej.

W Rozdziale 2 (**Założenia i cel pracy**) sformułowano pięć celów pracy; są to porównanie glomerulopatii błoniastej w nerkach własnych i przeszczepionych, analiza glomerulopatii błoniastej na tle innych chorób, określenie związku między parametrami klinicznymi i histopatologicznymi, analiza roli ogniskowego i segmentalnego stwardnienia w glomerulopatii błoniastej, oraz ocena wartości prognostycznej wybranych parametrów; cele pracy są sformułowane klarownie, ale w części są dość ogólne, przy czym kluczowy dla rozprawy cel 5 jest najlepiej i najdokładniej opisany.

Rozdział „**Materiał i metody**” rozpoczyna dokładny opis sposobu doboru materiału do badania. Pewnym ograniczeniem analizowanego materiału jest jego pochodzenie z różnych ośrodków, jednak wobec ograniczonej liczby wykonywanych biopsji zdobycie wystarczającego materiału z jednego ośrodka byłoby niemożliwe.

Przebadany **materiał** liczył ponad 200 przypadków, w tym 87 nerek własnych i 32 nerki przeszczepione z glomerulopatią błoniastą. Jest to materiał wystarczający do przeprowadzenia badania i wyciągnięcia wniosków, chociaż liczba przypadków, szczególnie nerek przeszczepionych, nie jest duża w kontekście planowania oceny licznych czynników prognostycznych. W rozdziale zawarto opis podstawowych cech badanej grupy; mógłby się on znaleźć także w „Wynikach”, nie mam jednak zastrzeżeń do takiego wyboru autorki. Opis został wykonany właściwie, nie podoba mi się jedynie zapis mediany (52,0 – jest to przecież z reguły liczba całkowita) oraz odchylenia standardowego - w tym kontekście zamiast średnia (SD ± 40) widziałbym raczej średnia (SD 40) albo średnia (SD=40). Dla pełnej jasności przydałoby się także

przypomnienie przy pierwszym wystąpieniu co oznacza zapis w nawiasie kwadratowym (mediana [37,0-61,0]; w innych pracach często zapisuje się tak zakres, albo zakres nieodstający). W tabeli 1 znajduje się wiersz zatytułowany „Nefropatia toczniowa (klasa inna niż V)” – ponieważ dotyczy jednego przypadku łatwo można by podać konkretną klasę zmian.

Następnie autorka opisała analizowane parametry kliniczne i laboratoryjne; ważne jest, że w wypadku danych które pragnęła uzyskać, co jednak nie okazało się możliwe, zostało to wyszczególnione w tekście.

Opis przygotowania preparatów histopatologicznych jest skrótowy, ale wystarczająco dokładny; oczywiście pomiędzy utwaleniem materiału a zatopieniem wycinków w parafinie nastąpiło kilka etapów co pominięto w opisie. Podobnie stosowane rutynowo barwienia zostały jedynie wymienione; w pracach doktorskich często ta metodyka bywa bardziej szczegółowo opisywana, nie ma to jednak szczególnego znaczenia dla wartości ocenianej pracy. W nazwie „barwienie Jones`a” niepotrzebny jest apostrof. Co do mikroskopii elektronicznej podano jedynie w jakiej części przypadków była ona wykonana; jest to w pełni usprawiedliwione, skoro badanie ultrastrukturalnie nie miało dla tematu pracy większego znaczenia; można jedynie zaznaczyć, że bardziej sensowne (a prostsze) byłoby podanie liczby przebadanych w ME przypadków. Nieco zbyt skrótowo potraktowano metodykę immunofluorescencyjną. Domyślam się, że wyniki badania wykonanego z materiału mrożakowego zostały odczytane z archiwalnych wyników histopatologicznych. Jeśli tak faktycznie było, to powinno być wyjaśnione w tekście. Opis odczynów immunohistochemicznych a także ich oceny jest wystarczająco dokładny dla replikacji badania. Nie podano jedynie, czy kontrole dodatnie dla PLA<sub>2</sub>R i IgG4 przeprowadzono na osobnych szkiełkach, czy dołączono skrawki do każdego preparatu (lub obie te metody równocześnie, co byłoby najrozsądniejsze). Odczyny w kierunku CD68 i WT1 są wykonywane w zakładach patomorfologii rutynowo i faktycznie nie wymagają szczególnej weryfikacji, jednak tak w wypadku odczynów diagnostycznych jak i badań naukowych warto wykonać dodatnie kontrole dla każdego preparatu. Być może takie postępowanie miało miejsce i jedynie pominięto ten fakt w opisie procedury.

Zdjęcia ilustrujące immunohistochemię są zadowalającej jakości jednak niektóre są gorzej wykadrowane (przycięte kłębuszki w fot. 9, 10). Użycie w podpisach „mikroskopia świetlna” jest chyba niepotrzebne, natomiast opis powinien być czytelny także dla osoby nieobeznanej z tematem - zwykle używa się czegoś w rodzaju „Fotografia 11. Makrofagi w obrębie kłębuszka; barwienie w kierunku CD68. Immunohistochemia, pow. 400x”. Interesujące jest stwierdzenie o różnej lokalizacji reakcji w kierunku PLA<sub>2</sub>R.

W pracy zastosowano właściwie dobrane metody statystyczne. Autorka posłużyła się oprogramowaniem darmowym (pakiet R), które zapewnia wysoką jakość obliczeń przy niskich kosztach ale większej pracochłonności. Zasluguje to na uwagę, ponieważ w naszym kraju młodzi naukowcy zbyt chętnie ograniczają się do użycia pakietów komercyjnych, które są łatwe w obsłudze; tym samym zapominają, że co najmniej równie dobre wyniki można osiągnąć za pomocą wolnego oprogramowania; dotyczy to zresztą nie tylko programów statystycznych.

Cieszącym oczy drobiazgiem jest konsekwentne i staranne używanie przez Doktorantkę właściwego, polskiego separatora dziesiętnego (przecinka), o czym początkujący naukowcy nie zawsze pamiętają.

W całości materiał został dobrany właściwie, a użyte metody nie budzą istotnych zastrzeżeń.

Rozdział **Wyniki** ma postać tekstu zaopatrzonego w liczne tabele i wykresy. Wykresy i tabele wykonano w ładnej, klarownej a nienachalnej i co ważne spójnej kolorystyce. W większości dane są czytelnie przedstawione. Wyniki obliczeń statystycznych zostały obszernie przedstawione, głównie w tabelach, a tekst zawiera przede wszystkim komentarz i podsumowanie najważniejszych informacji. Uzyskane wyniki są wartościowe i interesujące, można jedynie żałować, że braki danych klinicznych uniemożliwiły pełniejszą analizę przeżyciową.

W ogólności analiza statystyczna została prawidłowo przeprowadzona. Zastanawia mnie tylko czy nie byłoby bardziej właściwe, w sytuacji, gdy analizowanych jest kilka par kategorii (np. nerka własna / nerka przeszczepiona z glomerulopatią błoniastą; nerka przeszczepiona z glomerulopatią błoniastą / nerka przeszczepiona z inną glomerulopatią) użycie w miejsce testu U Mann-Whitneya, testu dla wielokrotnych porównań (Kruskall-Wallis) z analizą post-hoc. Zapewne Autorka wraz wspomagającym ją statystykiem to zagadnienie przemyślała lepiej ode mnie i będzie mogła to wyjaśnić podczas obrony.

W tekście „Wyników” widoczne są jednak pewne niedoskonałości:

Doktorantka używa terminu „liczba zdarzeń”, co jest poprawnym terminem ogólnym, jednak w tekście medycznych „liczba przypadków” czy „liczba pacjentów” byłaby bardziej zrozumiała. W tabeli 9 znacznie bardziej naturalne byłoby użycie stosunku płci a nie jedynie określenia „płeć: męska”.

Zapis statystyki małą literą  $\chi$  zamiast wielkiej X byłby odrobinę bardziej klarowny, skoro ta ostatnia jest graficznie identyczna z łańskim X.

W kolumnach tabel, które podają wyniki statystyk i współczynnik istotności Autorka stosuje zapis:

U=922,0,

p=0,178

Nie jest to błąd, ale dwa przecinki wyglądają brzydko; użyłbym średnika albo pozostawił bez znaku przystankowego. Oczywiście w tekście angielskim taki problem nie wystąpi.

Recenzent wolałby też podawanie oszacowanego współczynnika istotności jako  $p < 0,344$  a nie  $p = 0,343$  – tylko w wypadku testu Fishera jest to przecież dokładna wartość.

Rycinie 3 przydałby się dokładniejszy opis, jako że tego typu wykresy nie są często spotykane.

W rycinie 4 w środkowej części brakuje „h” (24h).

Na stronie 71 zapis „różnice w ekspresji PLA<sub>2</sub>R, które występowało częściej w grupie W” – winien brzmieć „która występowała” (ekspresja).

Użycie skrótów w wykresach jest zgodne z pozostałą częścią pracy, ale ilustracje zyskałyby na klarowności, gdyby użyto pełnych nazw grup czy określeń ekspresji PLA<sub>2</sub>R.

W rycinie 16 użyto punktów odcięcia dla białkomoczu 3,5g/d i 8g/d; o ile pierwszy jest oczywisty, to nie znalazłem w tekście pracy wyjaśnienia dla użycia właśnie 8g. Moim zdaniem krótka informacja w legendzie (NB bardzo ładnego wykresu) by się przydała.

W wykresach kołowych (ryc. 17, 18, 23, 24) do oznaczenia kolorów w legendzie użyto małych kropek; o ile czytany przez mnie plik pdf jest akceptowalny, to na wydruku albo przy ewentualnej publikacji powinno zostać użyte większe pole lub inny sposób oznaczenia.

W bardzo ładnych wykresach aluwialnych (ryc. 26, 28) pozostawiono część informacji w języku angielskim; podobnie w ryc. 27. W tym ostatnim zabrakło mi oznaczenia obserwacji pełnych i uciętych (jeśli były takie; jeśli nie, wartołoby dodać komentarz w rodzaju „przedstawiono wyłącznie kompletne obserwacje”).

W krótkiej, ładnie napisanej „Dyskusji” Doktorantka przedstawia relację pomiędzy danymi z literatury a wynikami własnymi. Pouczające są obserwacje dotyczące zależności pomiędzy interpretacją odczynów na  $PLA_2R$  a ich wartością prognostyczną. Rozdział ten nie budzi zastrzeżeń.

Pracę kończy 7 **wniosków merytorycznych**, oraz zgodne z prawdą stwierdzenie, że nie udało się ocenić znaczenia wszystkich proponowanych czynników prognostycznych. Wnioski są właściwie udokumentowane w tekście pracy, a założone na wstępie cele pracy udało się zrealizować.

**Literatura** liczy 129 pozycji ułożonych, zgodnie ze współczesnymi trendami, w porządku występowania w tekście. Cytowane są niemal wyłącznie oryginały i poglądowe prace naukowe publikowane w renomowanych czasopismach; są to prawie wyłącznie prace anglojęzyczne, stworzone przez różnorodnych autorów; słusznie ograniczono odwoływanie się do podręczników. Połowa cytowanych pozycji pochodzi z ostatnich 5 lat, a ostatnie prace merytoryczne z 2022 roku (są także cytowania z roku 2023, ale dotyczą one stron internetowych z opisem oprogramowania użytego w analizie statystycznej). Można więc powiedzieć, że Doktorantka uzupełniała literaturę niemal do ostatniej chwili. Jedynie pojedyncze prace pochodzą z czasów dawniejszych, są to publikacje, które mają istotną wartość historycznolekarską. Tekstualnie bibliografia jest starannie przygotowana, z zachowaniem stałego układu; tylko w kilku miejscach pominięto numery zeszytów, jednak nie utrudnia to jednoznacznej identyfikacji źródeł. W kilku miejscach nie ujednolicono użycia wielkich liter w tytułach. Podsumowując Doktorantka wykazała się umiejętnością właściwego doboru i użycia danych bibliograficznych.

W całości praca jest dobra i wystarczająca do ubiegania się o stopień naukowy doktora. Autorka pod opieką promotora zaplanowała i przeprowadziła poprawną pracę badawczą a jej wyniki przedstawiła w sposób przemyślany i czytelny. Badanie zawiera wystarczający element oryginalnego opracowania zagadnienia naukowego. Wymienione powyżej zastrzeżenia recenzenta dotyczą w większości kwestii redakcyjnych, chociaż np. literówki czy błędy interpunkcyjne są bardzo nieliczne, co dobrze świadczy o staranności Doktorantki. Jedynymi istotnymi wadami rozprawy są te zależne od samego materiału badawczego: ograniczonej liczby przypadków, zwłaszcza w pewnych podgrupach oraz od braków w wynikach badań klinicznych.

**Rozprawa doktorska 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.).**

**Mając powyższe na uwadze zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lekarz Aleksandry Starzyńskiej - Kubickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**



Dr hab. Krzysztof Okoń, prof. UJ