



**I Klinika Nefrologii i Transplantologii
z Ośrodkiem Dializ
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

Białystok 2023,06,05

Ocena rozprawy doktorskiej

Magister Karoliny Rogulskiej

**„Wybrane biomarkery diagnostyczne u pacjentów po przeszczepie
allogenicznym nerki”**

Najskuteczniejszą metodą leczenia schyłkowej przewlekłej niewydolności nerek jest przeszczep nerki. Od wielu już lat przeszczepienie nerki jest metodą z wyboru w leczeniu przewlekłej niewydolności nerek. W ostatnich latach dzięki wprowadzeniu przede wszystkim lepszego leczenia immunosupresyjnego oraz udoskonalenia technik operacyjnych i postępowania przed i pooperacyjnego znacznie poprawiło się rokowanie, spadła częstość utraty przeszczepu szczególnie w pierwszych miesiącach po transplantacji. Jednak przeszczepianie nerek nie jest metodą całkowicie skuteczną i po kilku- kilkunastu latach dochodzi do utraty funkcji nerki, co zmusza pacjentów do powrotu na dializy. Dlatego też od lat trwają poszukiwania zarówno we wczesnym okresie po transplantacji jak i w późniejszym markerów mających istotne znaczenia dla przeżycia graftu. Jak dotychczas nie znaleziono metod pozwalających szybko, pewnie i najlepiej bezinwazyjnie odpowiednio wcześnie uzyskać informacje wskazujące, iż u danego pacjenta jest duże zagrożenie szybką utratą przeszczepu, a u innego jego nie ma. Znalezienie takich markerów pozwoliłoby przynajmniej w części na wczesną interwencję a tym samym dłuższe przeżycie graftu.

W różnych chorobach nerek, szczególnie w ostrym uszkodzeniu nerek, próbuje się wykorzystywać różne biomarkery. Podejmuje się też próby zastosowania różnych biomarkerów u biorców różnych narządów, przede wszystkim nerek. Dlatego

podjęcie badań przez doktorantkę mających na celu ocenę biomarkerów wykorzystywanych do diagnostyki uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie allogenicznym uważam za cenny i mający teoretycznie duże znaczenie praktyczne.

Doktorantka magister Karolina Rogulska przystępując do badań postawiła kilka hipotez badawczych: po pierwsze czy stężenia biomarkerów zmieniają się istotnie w czasie po transplantacji, czy korelują w tym samym czasie z stężeniem kreatyniny, czy wybór metody diagnostycznej wykorzystywanej do diagnostyki uszkodzenia nerek u pacjentów po transplantacji nie wpływa istotnie na wartości ocenianych biomarkerów.

W tym celu doktorantka próbowała określić wartości diagnostyczne wybranych biomarkerów : lipokaliny związanej żelatynazą neutrofiów (NGL), cząsteczki -1 uszkodzenia nerek (KIM-1), chemokiny 10 z motywem C-X-C (CXCL-10) , osteopontyny (OPN), cystatyny C (CYS-C) białka wiążącego retinol 4 (RBP-4) , jelitowego czynnika trefoilowego (TFF3) i klusteryny (CLU).

Przedstawiona mi do oceny praca ma jest bardzo obszerna ma typowy układ dla tego typu rozprawy doktorskiej. Liczy 209 stron łącznie z załącznikami (zgoda komisji etycznej, pdf pracy poglądowej doktorantki opublikowanej w czasopiśmie z IF omawiającej biomarkery w transplantacji nerki i 5 tabel z bardzo szczegółowymi wynikami stężeń badanych biomarkerów. Praca liczy 43 tabele w pracy i 5 w załączniku, 24 ryciny, cytuje 312 pozycji piśmiennictwa, głównie anglojęzycznego z ostatnich lat dotyczącego badanych zagadnień. Praca jest zaplanowana i przeprowadzona prawidłowo. Obszerny i drobiazgowy wstęp uzasadnia celowość podjętych badań. Materiał i metoda przedstawione zostały bardzo obszernie, przejrzyste i pozwalają na powtórzenie badań. W sposób czytelny przedstawiono kryteria włączenia i wyłączenia z badania. Wyniki są logiczną konsekwencją uzyskanych rezultatów. Wyniki są bardzo dokładnie omówione i przedstawione w licznych tabelach i rycinach.

Doktorantka badania przeprowadziła na grupie 19 dorosłych pacjentów po transplantacji nerek będących pod opieką Poradni Transplantologicznej Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 2 PUM w Szczecinie. Od pacjentów pobierano krew na wykonanie oznaczeń biomarkerów na czczo oraz mocz w schemacie czasowym : 1 doba, 6 miesięcy i 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki. Dodatkowo analogiczny materiał został pobrany jednorazowo

także od 5 zdrowych osób, stanowiących grup kontrolną. Oznaczenia biomarkerów przeprowadzono metodą ELISA i fluorymetrii przepływowej xMAP Luminex.

Doktorantka wykazała, iż badane biomarkery zmieniają się w czasie w każdym badanym punkcie. Wartości tych markerów różnią się też w każdym punkcie czasowym w stosunku do wartości stwierdzanych w grupie kontrolnej.

Doktorantka stwierdziła istotne korelacje pomiędzy stężeniami biomarkerów: NGAL, KIM-1, CXCL-10, TFF3 i Cys C w surowicy i/lub moczu pacjentów a stężeniem kreatyniny/eGFR. Te istotności były najbardziej widoczne w pierwszym dniu po transplantacji. Wybór metody oznaczania biomarkerów czy stosowano ELISA lub xMAP Luminex miał wpływ na wartości stężeń badanych biomarkerów dla wszystkich biomarkerów z wyjątkiem osteopontyny. Doktorantka na podstawie uzyskanych wyników stwierdza iż, NGAL, KIM-1, Cys C CXCL-10 i TFF3 mogą być wykorzystywane do rutynowej diagnostyki funkcji nerek u pacjentów po transplantacji nerek.

Uzyskane wyniki mogą mieć jak najbardziej duże praktyczne i kliniczne znaczenie. Jednak te spostrzeżenia, jak najbardziej logiczne wymagają potwierdzenia na większej grupie pacjentów. Wydaje mi się iż też należałoby zwalidować wartości diagnostyczne. Niezwykle istotne jest iż doktorantka zastosowała szeroki panel badanych biomarkerów. Wydaje się, iż badanie kilku biomarkerów/panelu będzie miało większe znaczenie niż badanie jednego.

Wyniki przedstawiono w b. licznych tabelach są one bardzo dokładnie przedstawione i omówione.

Wnioski w liczbie 6 wydają się być słuszne choć wniosek, iż te biomarkery można wykorzystywać do rutynowej diagnostyki jest trochę za stanowczy, potrzeba jednak ich wartości zwalidować i wydaje mi się iż należałoby badać raczej panel niż jakiś pojedynczy marker.

W dyskusji przeprowadzonej przez doktorantkę dokonano wyczerpującej interpretacji poczynionych spostrzeżeń. Tam, gdzie było to możliwe, skonfrontowano je z danymi literaturowymi, jednak część uzyskanych stanowi oryginalne i ciekawe obserwacje doktorantki.

Piśmiennictwo jest bardzo obszerne i liczy 312 prac, które są prawidłowo cytowane w tekście.

Uwagi recenzenta:

Oceniana rozprawa doktorska nie budzi żadnych zastrzeżeń merytorycznych, a wymienione poniżej uwagi mają przede wszystkim charakter korektorski lub redakcyjny.

Co do rozdziału materiał i metody:

- Badania grupy pacjentów po przeszczepieniu nerki wykonano zaraz w pierwszej dobie potem w 6 miesiącu i po 12 miesiącach po zabiegu przeszczepienia nerki. Opis jest dość enigmatyczny. Brak mi podania czy wszyscy pacjenci byli stabilni i nie było problemów np. we wczesnym okresie po transplantacji np. opóźnionej funkcji graftu, ostrego odrzucania ostrych infekcji w okresie badania co może też mieć wpływ na wyniki wykonywanych oznaczeń.
- Mała grupa chorych o czym wspominałem już wcześniej i o czym krytycznie pisze doktorantka ogranicza wysuwanie pewniejszych wniosków
- Nie wiadomo przy małej grupie, która metoda wykonywania oznaczeń jest bardziej wartościowa

Pomimo tych krytycznych uwag (głównie edytorskich) należy podkreślić nowatorstwo pracy, rzetelność jej wykonania, umiejętność skonfrontowania własnych wyników z danymi literaturowymi oraz bardzo duże aspekty praktyczne i kliniczne tej pracy. Praca doktorska udowodniła nie tylko dobrą znajomości przez doktorantkę zagadnienia, lecz także odpowiedniego poziomu możliwości laboratoryjnych, technicznych i intelektualnych.

Z merytorycznego punktu widzenia wyrażam opinię, że oceniana rozprawa stanowi istotny wkład do wiedzy o problemie wykorzystania nowych biomarkerów do oceny funkcji nerek pacjentów po transplantacji nerek. Uzyskane wyniki uzyskane dzięki bardzo nowoczesnym badaniom są interesujące, poszerzają naszą wiedzę ale na pewno wymagają kontynuacji. Wydaje się, iż być może mogą mieć duże znaczenie praktyczne (wymagają jednak potwierdzenie na dużo większej grupie poddanej badaniu).

Rozprawa doktorska magister Karoliny Rogulskiej spełnia warunki 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 późniejszymi

zmianami) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.)”

Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie magister Karoliny Rogulaskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Jacek Małyszko
specjalista nefrolog, hipertensjolog,
transplantolog kliniczny,
terapii wewnętrzne