



Szczecin, 7.10.2014

Recenzja pracy doktorskiej lekarz Anny Szymanek-Pasternak "*Asymetryczna dimetyloarginina (ADMA) i cystatyna C u pacjentów zakażonych HIV z przewlekłą chorobą nerek*", promotor prof. dr hab. n. med. Brygida Knysz.

Powikłania przewlekłej terapii antyretrowirusowej, szczególnie w kontekście oczekiwanego długiego życia i ekspozycji na leki, wymagają szczególnego nadzoru i poszukiwania nowoczesnych parametrów mogących ułatwić określenie ryzyka powikłań i ich wczesną diagnostykę. Dysfunkcja nerek pozostaje jednym z kluczowych zagadnień klinicznych w leczeniu zakażenia HIV, szczególnie w kontekście nefrotoksyczności prowadzonych terapii i obserwowanego szybszego spadku filtracji kłębuszkowej osób żyjących z HIV przewlekle leczonych antyretrowirusowo.

Autorka podejmuje się zbadania funkcji dwóch nowoczesnych parametrów laboratoryjnych - asymetrycznej dimetyloargininy i cystatyny C u osób zakażonych HIV-1 a także ich istotności z punktu widzenia prowadzonej terapii i stosowania wybranych leków antyretrowirusowych (tenofowir, atazanawir, lopinawir).

Praca doktorska liczy 134 strony i ma typowy układ pracy doktorskiej zawierający wstęp, cele, metodologię, dyskusję, wnioski oraz piśmiennictwo.

Wstęp jest obszerny, sformułowany prawidłowo, zawiera konieczne dane epidemiologiczne dotyczące zakażenia HIV, kliniczne, włączając podstawy klasyfikacji niewydolności nerek, jej rozpowszechnienie wśród osób zakażonych HIV. W sposób przystępny opisane są również choroby nerek związane z HIV. Szczególnie wartościowa jest tabela opisująca białka wirusowe w kontekście chorób nerek. Wstęp daje teoretyczne podstawy dla przeprowadzonych badań a także wskazuje na luki w dotychczasowej wiedzy. Opisuje również funkcję i przydatność asymetrycznej dimetyloargininy oraz cystatyny dla oznaczeń funkcji nerek i pobudzenia immunologicznego.





Cele pracy sformułowane są prawidłowo i powiązane logicznie z wnioskami pracy doktorskiej. Celem pracy jest ocena funkcji nerek wśród osób zakażonych HIV-1 wraz z oceną przydatności wymienionych powyżej 2 markerów laboratoryjnych - asymetrycznej dimetyloargininy oraz cystatyny dla oceny tejże funkcji, a także ocena zmian funkcji nerek w trakcie leczenia ARV ze szczególnym uwzględnieniem tenofowiru, atazanawiru i lopinawiru/r - kluczowych leków dla których obserwowano zmiany funkcji nerek. Szczególnie ciekawym aspektem pracy są porównania eGFR oraz stężeń nowoczesnych markerów funkcji nerek (asymetrycznej dimetyloargininy oraz cystatyny) dla grupy leczonej i nieleczonej ARV.

Badanie zaprojektowano w przekrojowej (cross-section) metodologii case-control (119 osób badanych zakażonych HIV-1 z czego 98 osób leczonych antyretrowirusowo) oraz 31 osób w grupie kontrolnej - HIV (-), bez ekspozycji na leki ARV. Rozkład płci oraz wieku dla grupy badanej i kontrolnej jest zgodny i umożliwia prawidłowe wnioskowanie. Do grupy badanej włączono pacjentów HIV-1 (+) w stadium bezobjawowym zakażenia co zmniejsza ryzyko niedokładności porównań związanych z długotrwałym wpływem HIV-1 na funkcję nerek (nefropatia-HIV). Kryteria wyłączenia sformułowano prawidłowo wykluczając pacjentów ze współistniejącymi zaburzeniami oraz podwyższonym ryzykiem dysfunkcji nerek. Metodologia badań laboratoryjnych, obliczeniowych oraz testów statystycznych jest prawidłowa. W ostatecznej publikacji wyników pracy należałoby uwzględnić numer zgody KB. Brakuje informacji o charakterze rozkładu dla liczby limfocytów CD4 i wirerii (parametryczny czy nieparametryczny?), co jednak nie wpływa na jakość porównań statystycznych.

Wyniki zawierają 31 tabel i 20 rycin i są przedstawione przejrzysto i w sposób ułatwiający zrozumienie. Kluczowe wyniki zawarte w pracy wskazują, że spadek eGFR na leczeniu był istotny statystycznie, szczególnie dla LPV/r ale nie różnił się w zależności od drogi zakażenia HIV-1. Częstość występowania albuminurii była istotnie wyższa u osób z liczbą limfocytów CD4 < 500 vs > 500 kom/ul. Osoby z niewykrywalną wirerią HIV-1 miały istotnie niższe wartości eGFR co może wiązać się z ekspozycją na leki ARV. Stężenia asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA) oraz cystatyny C nie różniły się istotnie dla osób leczonych i nieleczonych ARV; nie było też różnic dla stosowanych schematów w porównaniu do osób



nieleczonych ARV. Czas leczenia antyretrowirusowego nie wpływał na stężenia ADMA w surowicy, cystatyny C w moczu i nasilenie albuminurii. Spadek eGFR korelował z częstością występowania albuminurii dla osób leczonych PI/r oraz PI/r+TDF (wyliczenia za pomocą funkcji kreatyniny, dla funkcji z użyciem cystatyny - nieistotne). Wyższy UCRR korelował z obniżeniem eGFR oraz albuminurią; ponadto wykazano korelację wysokości UCRR i stężeń cystatyny z proteinurią. Wyższy UCRR był także obserwowany u osób z CD4 <500 kom/ul vs >500 kom/ul. Nie było istotnych różnic między badanymi markerami funkcji nerek a zenitem wirerii HIV-1 (choć w mojej ocenie lepszym parametrem byłaby poziom wirerii przed leczeniem, co pozwoliłoby uniknąć niedokładności związanych z możliwym wczesnym zakażeniem HIV), skutecznością wirusową ARV, koinfekcją HCV, drogą zakażenia, paleniem papierosów czy występowaniem chorób współistniejących takich jak HA, kamica nerkowa, otyłość, wiekiem, wybranymi parametrami laboratoryjnymi czy markerami przebytego CMV. Różnice dla płci były niewielkie. Wyniki pracy są wartościowe, świadczą o dojrzałości badawczej autorki.

Dyskusja przeprowadzona jest prawidłowo. Opisany jest charakter grupy oraz jego reprezentatywność dla danych Polskich, uzasadniono wybór cystatyny jako dodatkowego markera dysfunkcji nerek. Porównana jest szczęśliwie niewielka częstość występowania przewlekłej choroby nerek u pacjentów HIV (+) obserwowana w pracy z badaniami europejskimi. Wyniki dotyczące niższego eGFR w grupie kontrolnej w porównaniu z grupą badaną są interpretowane z prawidłową ostrożnością, podobnie jak wynik dotyczący wyższego eGFR u osób nieleczonych z wykrywalną wirerią HIV-1 w porównaniu z osobami o niewykrywalnej wirerii. Wartościowo podkreślono również wyniki dotyczące albuminurii i proteinurii u osób zakażonych HIV - markera istotnego z punktu widzenia klinicysty, szczególnie z punktu widzenia leczenia antyretrowirusowego oraz korelację stężenia cystatyna C-proteinura a co za tym idzie wykazano wartość cystatyny C w diagnostyce potencjalnych tubulopatii.

W pracy dyskutowana jest również podwyższone cystatyny C u osób z niedoborem immunologicznym (limfocyty CD4 <500 kom/ul) co może wskazywać na związek między dysfunkcją immunologiczną a tendencją do zaburzenia funkcji nerek. Ciekawy wynik dotyczy





korelacji ADMA/cystatyna C, choć z braku odnośników w piśmiennictwie dyskusja tego wyniku została przeprowadzona skrótowo. Kolejnym ciekawym zagadnieniem poruszonym w dyskusji były stężenia ADMA, istotnie wyższe u osób HIV(+) niż w grupie kontrolnej oraz jego potencjalna rola jako markera pobudzenia reakcji zapalnej - wynik z pewnością na tyle wartościowy, że zasługuje na poszerzenie w kolejnych badaniach szczególnie z analizami prospektywnymi i seryjnym oznaczeniem tego parametru.

Wnioski wynikają z wyników i przeprowadzonej dyskusji i są sformułowane prawidłowo, niemniej tłumaczenie podane w ostatnim wniosku (obserwowane zjawisko wynika z faktu...) powinno raczej znaleźć się w dyskusji.

Piśmiennictwo jest obszerne, obejmuje niebagatelną ilość 252 pozycji i zawiera zarówno kluczowe publikacje podstawowe, jak i znaczącą część obcojęzycznego piśmiennictwa opublikowanego w ciągu ostatnich 4 lat. Struktura piśmiennictwa wskazuje na dobre przygotowanie teoretyczne pracy doktorskiej i szeroką wiedzę doktorantki.

Z punktu widzenia recenzenta chciałbym prosić o rozszerzenie/wyjaśnienie nasypujących zagadnień, co nie umniejsza jednak wysokiej wartości pracy a stanowiłoby jej uzupełnienie:

1. W charakterystyce grupy badanej chciałoby się zobaczyć ile osób jest na terapii zawierającej zarówno TDF jak LPV/r oraz ATV/r + TDF, poza tym charakterystyka podstawowa jest opisana dobrze i odpowiada charakterystyce dla kohort Polskich i Europejskich;
2. Z czego wynika duża ilość eGFR w przedziale 89-60 (15-42% w zależności od metody) dla grupy kontrolnej (częstsza niż w grupie badanej?); dlaczego eGFR był niższy w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy badanej?
3. Proteinuria, albuminuria oraz leukocyturia były częstsze liczbowo, choć nie statystycznie w grupie badanej. Czy było to związane z leczeniem, na przykład TDF?
4. Były obserwowane różnice dla czasu leczenia i stężeń cystatyny C i ADMS, ale nie moge odnaleźć czasu leczenia dla poszczególnych leków. Czy były różnice dla czasu terapii dla ATV, LPV/r i TDF?





Powyższe pytania stanowią zagadnienia uzupełniające, nie obniżające wysokiej oceny pracy. Praca doktorska lekarz Anny Szymanek-Pasternak jest pracą przeprowadzoną rzetelnie, o wysokiej wartości naukowej, i świadczy o wysokiej wiedzy na temat przedstawianych zagadnień. Praca spełnia wszelkie wymogi formalne i merytoryczne dla pracy doktorskiej, dlatego z wnioskiem i zwracam się z uprzejmą prośbą do rady Wydziału Lekarskiego UM we Wrocławiu o dopuszczenie lekarz Anny Szymanek-Pasternak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

dr hab. n. med. prof. PUM

Miłosz Parczewski

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Zakaźnych, Tropikalnych
i Nabytych Niedoborów Immunologicznych
dr hab. n. med. Miłosz Parczewski
prof. nadzw. PUM