

Recenzja pracy doktorskiej lek. Katarzyny Gniewek

**„CD80, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 i suPAR – użyteczność
markerów uszkodzenia podocyta w ocenie aktywności
kłębuszkowych zapaleń nerek”**

Pierwotne kłębuszkowe zapalenia nerek są częstą przyczyną przewlekłej choroby nerek. Etiopatogeneza glomerulopatii pierwotnych od wielu lat jest przedmiotem intensywnych badań. W ostatnich latach dzięki osiągnięciom nauk podstawowych w tym biologii molekularnej i dzięki bardziej dokładnemu zrozumieniu patogenezы kłębuszkowych zapaleń nerek zaproponowano kilka nowych wskaźników diagnostycznych tej grupy schorzeń. Można zaliczyć do nich m.in. metaloproteinazy MMP-2 i MMP-9, ich inhibitory TIMP-2 i TIMP-1 a także białka CD80 i suPAR - rozpuszczalny receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu.

Inhibitory metaloproteinaz mają zdolność hamowania aktywności tych enzymów, przy czym TIMP-2 wykazuje szczególne powinowactwo do MMP-2 a TIMP-1 do MMP-9. Powyżej wymienione metaloproteinazy i ich inhibitory odgrywają istotną rolę w utrzymaniu równowagi między procesami syntezy i degradacji macierzy pozakomórkowej kłębuszka nerkowego. Zaburzenie równowagi pomiędzy aktywnością metaloproteinaz i ich inhibitorów może prowadzić do szklwienia kłębuszków nerkowych. Znaczenie MMP-2 w patogenezie glomerulopatii polega ponadto na wywoływaniu uszkodzeniu błony podstawnej kłębuszka.

SuPAR jest białkiem powstałym wskutek degradacji receptora uPAR w miejscu zakotwiczenia do błony podstawnej podocyta. U zdrowych ludzi białko to występuje w niewielkim stężeniu w osoczu i bierze udział w przyleganiu i migracji komórek. Wyniki doświadczeń na zwierzętach i wstępne wyniki badań klinicznych sugerują, że SuPAR może być osoczym czynnikiem zwiększającym przepuszczalność błony filtracyjnej kłębuszka nerkowego.

CD80 jest przezbłonowym białkiem występującym na powierzchni wielu komórek, (między innymi na limfocytach B i komórkach prezentujących antygen). Podocyty są zdolne do nabywania właściwości komórek prezentujących antygen po pobudzeniu fragmentami

bakterii, wirusami i limfokinami. Nadmierna aktywność CD80 na podocytach może prowadzić do białkomoczu w nefropatii zmian minimalnych.

Powyżej wymienione nowe wskaźniki diagnostyczne mogą mieć znaczenie w rozpoznawaniu glomerulopatii i w ocenie aktywności choroby, co może umożliwić indywidualizację leczenia oraz mieć znaczenie prognostyczne.

Przedstawiona mi do oceny praca ma typowy układ. Liczy 134 strony, w tym 26 rycin i 25 tabel. Załączono także streszczenie w języku polskim i angielskim. Spis dobrze dobranego i właściwie przytoczonego piśmiennictwa (286 pozycji) jest zamieszczony przy końcu pracy, po streszczeniach w języku polskim i angielskim.

W obszernym, ciekawie napisanym wstępie doktorantka przedstawiła problematykę kłębuszkowych zapaleń nerek i scharakteryzowała morfologię oraz patogenezę uszkodzenia komórek o kluczowym znaczeniu w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek – podocytów. We wstępie opisując poszczególne postacie kłębuszkowych zapaleń nerek uzasadniła podział kłębuszkowych zapaleń nerek na dwie grupy: podocytopatii i glomerulopatii z rozplemem mesangium. Ten podział jest stosowany przy analizie wyników w dalszej części rozprawy. Autorka następnie przeszła do omówienia znaczenia metaloproteinaz i ich inhibitorów oraz wskaźników uszkodzenia podocytów: suPAR i CD80 w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek. Wstęp rozprawy doktorskiej jest starannie napisany i dowodzi szerokiej wiedzy doktorantki.

W oparciu o przesłanki przedstawione we wstępie został sformułowany cel rozprawy, którym była ocena użyteczności oznaczenia stężeń enzymów - MMP-2, MMP-9 oraz ich inhibitorów - TIMP-2 i TIMP-1, a także białek CD80 i suPAR w surowicy oraz w moczu w różnicowaniu i w określaniu aktywności glomerulopatii. Biorąc pod uwagę wieloletnie zainteresowania zarówno Kierownika Kliniki prof. Mariana Klingera jak i promotora prof. Magdaleny Krajewskiej obecna rozprawa doktorska jest kontynuacją i poszerzeniem wiodących tematów naukowych Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Podjęty przez lek. Katarzynę Gniewek temat porusza istotne zagadnienia w patogenezie jak i diagnostyce pierwotnych glomerulopatii i jest trafny, zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i praktycznego.

Badaniami objęto 120 chorych na glomerulopatię pierwotną w wieku od 1 do 86 lat. U 100 chorych rozpoznanie kłębuszkowego zapalenia nerek potwierdzono badaniem histopatologicznym, a u 20 rozpoznanie postawiono jedynie na podstawie obrazu klinicznego. U tych chorych biopsja nerki nie była wykonana z powodu przeciwwskazań lub braku zgody pacjenta. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 29 zdrowych ochotników. W rozprawie

przejrzystość i szczegółowo scharakteryzowano grupy badane (przedstawiając m.in. sposób leczenia i występowanie chorób współistniejących), co wskazuje na dobrą znajomość podejmowanej w pracy tematyki. Autorka dokonała dwóch różnych podziałów grupy badanej. Pierwszy z nich polegał na wyodrębnieniu grupy chorych wykazujących cechy klinicznej aktywności choroby w momencie przeprowadzania badania i grupy bez cech zaostrzenia choroby. Kryteriami kwalifikacji do tych grup były: nasilenie białkomoczu dobowego, występowanie co najmniej sześciu erytrocytów wylugowanych i przynajmniej jednego wałeczka patologicznego w osadzie moczu. Pięćdziesięciu siedmiu chorych zaklasyfikowano do grupy aktywnej a 63 chorych do grupy nieaktywnej. Drugi podział polegał na przydzieleniu chorych biorąc pod uwagę rozpoznanie histopatologiczne kłębuszkowego zapalenia nerek do jednej z dwóch grup: podocytopatii i glomerulopatii z rozplemem mesangium.

U wszystkich osób objętych badaniem oceniono m.in. laboratoryjne wykładniki aktywności choroby (szacowane przesączanie kłębuszkowe, stężenie białka całkowitego, albumin, lipidów w surowicy, stężenie białka i kreatyniny w moczu oraz badanie osadu moczu). Pomiary stężenia MMP-2, MMP-9, TIMP-2, TIMP-1, CD80 i suPAR wykonano w surowicy i moczu u wszystkich osób z grupy badanej i kontrolnej przy pomocy komercyjnych testów immunoenzymatycznych ELISA

Metodyka badań i sposób analizy statystycznej nie budzą zastrzeżeń.

W rozdziale *Wyniki* autorka prezentuje w sposób uporządkowany uzyskane wyniki analizując i porównując kolejno badane grupy pod względem stężeń MMP-2, MMP-9, TIMP-2, TIMP-1, CD80 i suPAR w surowicy i moczu.

W wyniku przeprowadzonych badań doktorantka stwierdziła wyższe stężenia MMP-2, TIMP-2 i TIMP-1 w surowicy i moczu oraz MMP-9 w surowicy w grupie aktywnej choroby, w porównaniu do grupy nieaktywnej. Wykazano dodatnią zależność pomiędzy stężeniem MMP-2 i TIMP-2 w surowicy i moczu a białkomoczem dobowym. Ponadto stwierdzono ujemną korelację stężeń MMP-2 i TIMP-2 w surowicy z eGFR. Stężenia MMP-2 i TIMP-2 w surowicy ulegały zwiększeniu wraz z narastaniem zaawansowania PChN.

W ocenianej pracy wykazano istotnie wyższe stężenia suPAR w surowicy i moczu w grupie aktywnej w porównaniu z grupą nieaktywną. Po uwzględnieniu grup rozpoznań histopatologicznych, najwyższe stężenie suPAR w surowicy stwierdzono w grupie aktywnych podocytopatii. Stężenie suPAR surowicy ulegało zwiększeniu wraz z narastaniem zaawansowania PChN.

W wyniku przeprowadzonych badań doktorantka wykazała w surowicy znamienne wyższe stężenia CD80 w grupie nieaktywnej w porównaniu z grupą aktywną, natomiast w moczu wykazano wyższe stężenia CD80 w grupie aktywnej w porównaniu z nieaktywną.

Dyskusja prowadzona bardzo ciekawie zawiera rzeczową i samodzielną interpretację wyników, a doktorantka skonfrontowała własne wyniki z rezultatami innych autorów i gdzie było to możliwe spróbowała znaleźć wytłumaczenie istniejących rozbieżności. Autorka również skomentowała ograniczenie pracy, którym jest to że względu na małą liczbę badanych chorych w podgrupach nie przeprowadzono analizy wpływu stosowanych leków na stężenia w surowicy i moczu badanych wskaźników.

Rozprawę kończy 6 wniosków, których treść jest zgodna z celami pracy.

Piśmiennictwo obejmuje prace do 2014 roku, które są prawidłowo dobrane i odpowiednio cytowane w tekście.

W mojej opinii rozprawa zawiera drobne niedoskonałości o charakterze głównie edytorskim. Tabela VIII dotyczy dawek stosowanych leków a nie jak przedstawiono w opisie tabeli, stężeń leków we krwi. We wnioskach 1, 2, 3 i 6 nie określono czy oznaczenie stężeń badanych białek dotyczy surowicy czy moczu. Ponadto streszczenia zarówno w języku angielskim jak i polskim są zbyt długie (liczą odpowiednio 4 i 3 strony). Powyższe niedoskonałości w żadnej mierze nie wpływają jednak na wysoką ocenę rozprawy.

Oceniając pracę, należy podkreślić umiejętność skonfrontowania własnych wyników z danymi literaturowymi oraz potencjalne aspekty kliniczne tej pracy. Z merytorycznego punktu widzenia wyrażam opinię, że oceniana rozprawa stanowi istotny wkład do wiedzy o kłębuszkowych zapaleniach nerek. Praca jest dobrym opracowaniem odpowiednio dobranego materiału klinicznego z zastosowaniem adekwatnych narzędzi badawczych. Ponadto poza opisanymi powyżej niedoskonałościami rozprawa została poprawnie opracowana pod względem edytorskim. Jest napisana ładnym językiem.

Mam nadzieję, że niedługo praca ta będzie opublikowana w czasopiśmie naukowym, aby umożliwić szerszemu gronu badaczy zapoznanie się z tymi interesującymi wynikami.

Autorka dowiodła zdolności prowadzenia oryginalnych badań klinicznych oraz wykazała się dobrym przygotowaniem merytorycznym i umiejętnością samodzielnego formułowania i rozwiązywania problemów naukowych.

Kończąc pragnę jeszcze raz podkreślić istotne walory poznawcze wykonanych badań i ich nowoczesność.

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Gniewek spełnia ustawowe wymogi uzyskania stopnia naukowego doktora nauk medycznych.

Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Katarzyny Gniewek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

9384931
Dr hab. n. med. Marcin Adamczak
Specjalista chorób wewnętrznych
Specjalista nefrolog
M. Adamczak

dr hab. n. med. Marcin Adamczak