

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku  
I Klinika Nefrologii i  
Transplantologii z Ośrodkiem Dializ

15-540 Białystok ul. Żurawia 14, tel.: (085) 7409458, fax: (085) 7434586, e-mail: bnaumnik@poczta.onet.pl

---

Białystok, 16.06.2020

Opinia  
o dysertacji doktorskiej pt.

**Zmienność stężenia aktywnych metabolitów witaminy D w zależności od pory roku, stanu odżywienia oraz wskaźników uszkodzenia przeszczepionego narządu u pacjentów w odległym okresie po przeszczepieniu nerki**

autorstwa lek. med. Joanny Wilimborek

Praca wykonana pod kierunkiem dr hab. n. med. prof. UM Ilony Kurnatowskiej

Problem niedoboru witaminy D i jej suplementacji stanowi jedną z najbardziej aktualnych kontrowersji współczesnej medycyny. Poczynając od braku konsensusu w sprawie definicji jej niedoboru, poprzez złożoną wielopłaszczyznowość czynników wpływających na jej stężenie w organizmie, stwierdzone powszechnie niskie stężenia jej aktywnych metabolitów w całym społeczeństwie, na różnorodności preparatów dostępnych na rynku w wolnej sprzedaży kończąc, zagadnienie to krzyczy o wypracowanie jasnych wytycznych.

Problem ten jest jeszcze bardziej skomplikowany wśród chorych z przewlekłą chorobą nerek (PChN). Nerki bowiem są kluczowym narządem odpowiedzialnym za powstawanie aktywnego metabolitu witaminy D w ustroju – 1,25(OH)<sub>2</sub>D (kalcytriolu). Stąd niedobór nierzadko jest już stwierdzany we wczesnych stadiach choroby. Jest on następstwem ubytku czynnego miąższu nerek, białkomoczu, stosowanej terapii, ale także może być wynikiem licznych obciążeń oraz ograniczeń, w tym dietetycznych.

Pacjenci po przeszczepieniu nerki (KTx) stanowią grupę osób szczególnie narażonych na

niedobory witaminy D. Większość z nich ma już wyjściowo upośledzoną czynność graftu, wszyscy pozostają na terapii immunosupresyjnej (w tym glikokortykoterapii skojarzonej z inhibitorami kalcyneuryny) oraz mają zalecaną zmniejszoną ekspozycję na światło słoneczne ze względu na duże ryzyko rozwoju nowotworów skóry.

Witamina D odgrywa podstawową rolę w regulacji metabolizmu kości oraz gospodarki wapniowo-fosforanowej, ale posiada również wiele działań poejotropowych, takich jak wpływ na funkcję układu immunologicznego, krwiotwórczego, nowotworzenie oraz morfologię i czynność układu sercowo-naczyniowego. Mając na uwadze tę złożoną rolę i obecność jej receptorów na powierzchni większości komórek organizmu ludzkiego przedmiot podjętych przez Doktorantkę badań jest zarówno niezmiernie ciekawy jak i w pełni uzasadniony - zarówno z uwagi na aspekty poznawcze, jak i codzienną praktykę kliniczną.

Monografia wraz z piśmiennictwem liczy 125 stron druku. Posiada typowy dla dysertacji doktorskich układ. Obszerny wstęp poprzedzony jest spisem treści i spisem skrótów.

We *Wstępie* Autorka przybliży patomechanizm powstawania aktywnych metabolitów witaminy D w ustroju, ich funkcję i znaczenie patofizjologiczne w przewlekłej chorobie nerek. Omawia również epidemiologię oraz czynniki ryzyka niedoboru tej witaminy. Charakteryzuje problem niedoboru dyskutując związki przyczynowo-skutkowe powikłań, jak również ich braku, u pacjentów po KTx. Podkreśla, że pacjenci po przeszczepieniu nerki mają wiele czynników ryzyka niedoboru witaminy D, jednak znaczenie kliniczne niedoborów tej witaminy, w tym jej aktywnego metabolitu, kalcytriolu, nie zostało dotąd wyjaśnione.

Opis jest więc wyczerpujący, informatywny i stanowi dobrą podbudowę merytoryczną do przeprowadzonego badania. Rozmach i pewność pióra Autorki świadczy o jej dużej wiedzy teoretycznej i praktycznej. Jedynym zastrzeżeniem w tym miejscu dysertacji jest niepoprawność stwierdzenia oznaczania stężenia fosforu we krwi, które to stwierdzenie zapewne dotyczy stężenia fosforanów oraz brak ustosunkowania się do bardzo kontrowersyjnego pojęcia tzw. „normy” stężenia aktywnych metabolitów witaminy D w ustroju i spornego zagadnienia ich suplementacji. Niemniej jednak, *Wstęp* napisany jest zwięźle, logicznie i bardzo przystępnie. Jest dobrym wprowadzeniem czytelnika w pryncypia problematyki rozwiniętej w dalszej części pracy.

*Cele pracy*, podane w sposób zwięzły, syntetyczny i logiczny, wypływają z rozważań zawartych we wstępie. Autorka wytycza, główne trzy zadania: 1. Ocenę stężenia aktywnych metabolitów witaminy D w surowicy oraz ich zmienności w zależności od pory roku u pacjentów ze stabilną czynnością nerki przeszczepionej w odległym okresie po przeszczepieniu nerki, 2. Ocenę wpływu stężenia aktywnych metabolitów witaminy D na wskaźniki uszkodzenia nerki przeszczepionej, profil lipidowy oraz parametry stanu zapalnego oraz 3. Ocenę wpływu stanu odżywienia chorych po przeszczepieniu nerki na stężenie aktywnych metabolitów witaminy D. Mam uwagę co do założenia drugiego, które moim zdaniem powinno brzmieć: Ocena związku pomiędzy stężeniem aktywnych metabolitów witaminy D a wskaźnikami uszkodzenia nerki przeszczepionej, profilem lipidowym oraz parametrami stanu zapalnego.

*Materiał do badań* stanowiła ostatecznie grupa 64 pacjentów (26 kobiet, 38 mężczyzn) z dobrą funkcją graftu (średni eGFR ok. 50 ml/min/1.73m<sup>2</sup>), będących średnio 6 lat po KTx, mieszkających w Polsce (podane dane kartograficzne są nieco mylące), pozostających pod stałą opieką Poradni Leczenia Po Przeszczepieniu Nerki USK nr 1 im. N. Barlickiego w Łodzi. Badanie miało charakter prospektywny i obserwacyjny. Jasno i poprawnie sformułowano kryteria kwalifikacyjne i dyskwalifikacyjne. Wszyscy zakwalifikowani ostatecznie do badania chorzy, podczas rutynowej wizyty w Poradni, mieli oznaczone wybrane wskaźniki biochemiczne włącznie z oszacowaniem albuminurii na podstawie wskaźnika ACR, pobraną krew w celu oceny stężenia: 25(OH)D, kalcytriolu i czynnika FGF-23, wykonany pomiar parametrów antropometrycznych oraz analizę składu ciała za pomocą bioimpedancji elektrycznej (BCM). Badanie w takiej postaci i pobranie krwi zostało przeprowadzone u każdego chorego dwukrotnie, w miesiącach letnich (lipiec, sierpień) i zimowych (styczeń, luty). Dane dotyczące historii choroby, stosowanego leczenia w tym leczenia immunosupresyjnego zaczerpnięto z dokumentacji medycznej pacjenta. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej UM w Łodzi (nr uchwały RNN/1/14/KE z dn. 14.01.2014 r.) a pacjenci podpisali świadomą zgodę. Pragnę zaznaczyć, że nie mam żadnych uwag dotyczących tej części badania.

*Metody oznaczeń laboratoryjnych i pozostałych badań* zostały poprawnie przedstawione. *Techniki analizy statystycznej* są ogólnie przyjęte i w pełni poprawne. Zostały starannie dobrane i są adekwatne zarówno do założeń jak i obranych metod badawczych.

*Wyniki badań* Autorka przedstawiła na 33 stronach w postaci opisowej oraz zilustrowała je 30 tabelami i 8 rycinami, co zajmuje około 26% tekstu całej dysertacji. Zwraca uwagę wielką staranność opracowania i bardzo ładną formą graficzną. Wyniki badań są szczegółowe i bardzo ciekawe. Autorka opisuje istotnie większe średnie stężenie 25(OH)D i kalcytriolu w porze letniej w porównaniu do zimowej, nie stwierdzając jednocześnie między nimi żadnej korelacji. Na podstawie stężenia 25(OH)D i norm ustalonych dla populacji ogólnej u większości zbadanych biorców (60, 93.8%) stwierdzono hipowitaminozę, jednocześnie nie stwierdzając u żadnego pacjenta ciężkiego niedoboru witaminy D. Te same zależności występowały zarówno zimą jak i latem. Nie stwierdzono statystycznie istotnych zależności pomiędzy stężeniem badanych metabolitów witaminy D a wykładnikami funkcji graftu (kreatyninemia, eGFR, ACR). Jednak prawidłowe zasoby witaminy D stwierdzono tylko u pacjentów z eGFR  $\geq$  45ml/min/1,73m. Podobnie, wśród wszystkich pacjentów z albuminurią stwierdzano niedobór witaminy D, zaś prawidłowe stężenie 25(OH)D tylko wśród biorców bez tego objawu. Nie wykazano także zależności między stężeniami badanych metabolitów witaminy D a stężeniem CRP, parametrami analizy składu ciała i BMI, chociaż zarówno CRP, jak i BMI zaistniały jako predyktory stężenia 25(OH)D w modelu regresji. W analizie korelacji, wraz ze zwiększeniem stężenia 25(OH)D, wykazano poprawę profilu lipidowego w postaci zmniejszenia stężenia cholesterolu całkowitego (TC) oraz LDL-cholesterolu. Stężenie TC okazało się jednym z niezależnych czynników wpływających na stężenie 25(OH)D (analiza regresji liniowej). Nie stwierdzono wpływu stężenia kalcytriolu na oceniane parametry lipidowe. Do analizy wyników mam jednak dwie uwagi techniczne i jedną nomenklaturową:

1. Podział badanej 64-osobowej grupy na trzy podgrupy według niedoboru (25(OH)D < 15 ng/ml, 16 pacjentów), niewystarczającego stężenia (25(OH)D 15-30 ng/ml, 44 pacjentów) i prawidłowych zasobów witaminy D (25(OH)D  $\geq$  30 ng/ml, 4 pacjentów) spowodowało konieczność porównywania wszystkich parametrów w obrębie niesymetrycznych ilościowo grup, z których ostatnia nie spełnia podstawowego kryterium poprawności prowadzenia analizy statystycznej, liczy bowiem mniej niż 7 osób; podobna sytuacja ma miejsce, gdy porównywane są parametry pomiędzy chorymi z jakimkolwiek niedoborem 25(OH)D (60 pacjentów) i bez niedoboru (znowu tylko 4 elementy); znacznie korzystniej i poprawniej statystycznie byłoby podzielić badaną grupę np. na dwie, gdzie punktem odcięcia mogłoby być średnie

roczne stężenie poszczególnych metabolitów uzyskane w całej grupie – wówczas analiza statystyczna nie nasuwałaby zastrzeżeń.

2. Do modelu korelacji wielu zmiennych (tzw. analizy wieloczynnikowej regresji) nie należy wprowadzać czynników, które pozostają ze sobą w zależności liniowej, tak jak np. cholesterol całkowity i frakcja LDL. Model takiej analizy należy budować wybierając najsilniej korelujące parametry z grup niewspółzależnych zmiennych.
3. Wskaźnika albumina/kreatynina w moczu (ACR) nie należy interpretować jako białkomoczu, gdyż albuminuria i białkomocz nie są (z definicji) pojęciami wymiennymi.

Pragnę jednak podkreślić, iż wyniki badań uzyskane przez Doktorantkę uważam za rzetelne, bardzo ciekawe i istotne w praktyce klinicznej. Chciałabym również podkreślić niezwykłą systematyczność i uporządkowanie opisu przeprowadzonej analizy.

*Dyskusja*, to dość istotny rozdział monografii. Autorka skupia się tu przede wszystkim na omówieniu uzyskanych wyników w świetle dotychczasowych doniesień i publikacji. Bardzo podoba mi się krytyczny stosunek do zgromadzonych dotychczas wniosków. Chciałabym na kilka z nich zwrócić szczególną uwagę. Doktorantka, omawiając brak bezpośredniej zależności pomiędzy stężeniami badanych metabolitów witaminy D a parametrami funkcji nerki przeszczepionej, a jedynie zaobserwowany wprost proporcjonalny trend, bardzo rozsądnie zwraca uwagę na pułapkę interpretacji skutku i przyczyny. Wiele prac wnioskuje, że niedobór witaminy D jest niezależnym czynnikiem ryzyka zmniejszenia filtracji kłębuszkowej, podczas gdy to spadek filtracji kłębuszkowej pociąga za sobą zmniejszenie stężenia metabolitów tej witaminy. Bardzo rozsądnie Autorka dysertacji argumentuje, głównie w oparciu o prace holenderskie, że niedobór aktywnych metabolitów witaminy D jest wtórny do włóknienia śródmiąższu i kanalików nerkowych, w tym cewki proksymalnej, która jest miejscem ekspresji 1alfa hydroksylazy bezpośrednio odpowiedzialnej za powstanie aktywnego kalcytriolu. Być może brak znamienych korelacji jest skutkiem małej liczebności grup, co również zostało podkreślone przez Autorkę. Argumentem na taki punkt widzenia są wyniki prac brazylijskich, w których jedynie 10% pacjentów po KTx miało niedobór witaminy D, a prawie 50% nie wykazywało niedoboru. Badania te wykazują znamienne niższe stężenia 25(OH)D u chorych z większym białkomoczem i niższym eGFR. Kolejnym, ciekawie dyskutowanym

spostrzeżeniem jest zaobserwowany odwrotny związek stężenia 25(OH)D (a nie kalcytriolu) z większą ilością tkanki tłuszczowej a mniejszym beztłuszczowej, co prawdopodobnie wiąże się z sekwestracją witaminy D w tłuszczach. Doktorantka jednak zwraca uwagę na najnowsze doniesienia mówiące o ujemnej korelacji między stężeniem metabolitów witaminy D a, nie tyle ilością tkanki tłuszczowej, ile jej przyrostem w czasie. Szybkiemu tyciu po przeszczepieniu nerki sprzyja ograniczenie wysiłku fizycznego i tym samym ekspozycji na światło słoneczne, zalecenia stosowania faktorów, powrót apetytu oraz terapia immunosupresyjna, które to fakty zostały również szczegółowo omówione przez Doktorantkę w dyskusji. Na podstawie przedstawionego badania, jak i literatury, można wnioskować, że skład ciała i gospodarka lipidowa (cholesterol całkowity i frakcja LDL) mają niewątpliwy związek z zasobami witaminy D. Jednak bardzo trafnie została przytoczona metaanaliza 21 randomizowanych badań, która nie potwierdziła jakiegokolwiek wpływu suplementacji witaminy D na rozwój powikłań jej niedoboru, w tym sugerowany wzrost ryzyka śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych. Podobnie wpływ stężenia metabolitów witaminy D na parametry stanu zapalnego (w tym CRP), jak również predyspozycje do infekcji wirusowych i bakteryjnych jest dyskusyjny, a wyniki badań są niejednokrotnie sprzeczne. Chcę podkreślić, że dyskusja jest niezwykle ciekawa i wyczerpująca, wielopłaszczyznowa i momentami zaskakująca. Stanowi mocną stronę dysertacji. Podkreślam raz jeszcze trudność interpretacji wyników własnych w zderzeniu z chaosem doniesień o niejednokrotnie mało przekonujących i bardzo kontrowersyjnych wnioskach.

*Wnioski* wynikające z przeprowadzonych badań Doktorantka zawarła w 3 zwartych punktach, będących jasną odpowiedzią na wytyczone cele. Pozwolę sobie przytoczyć je *in extenso*:

1. Większość pacjentów w odległym okresie po przeszczepieniu nerki, niezależnie od pory roku, ma niedostateczne zasoby witaminy D oceniane na podstawie stężenia 25(OH)D.

2. Stężenie aktywnych metabolitów witaminy D: 25(OH)D oraz 1,25(OH)2D nie zależy od czynności nerki przeszczepionej ani nasilenia białkomoczu (uwaga - powinno być albuminurii).

3. Nadmiar tkanki tłuszczowej oraz większe stężenie cholesterolu są czynnikami ryzyka niedoboru witaminy D u pacjentów w odległym okresie po przeszczepieniu nerki.

Dla porządku dodam, że piśmiennictwo liczy 267 pozycji i w zdecydowanej większości pochodzi z kilku ostatnich lat. Załączony spis tabel i rycin oraz indeks skrótów stanowczo ułatwia czytanie pracy. Załączone streszczenie liczy 5 stron, jest rzeczowe i merytoryczne, ale mogłoby być skrócone bez wpływu na jego informatywność.

Moje podsumowanie dysertacji, którą miałam przyjemność recenzować jest jednoznaczne. Temat pracy, niezwykle aktualny i pożyteczny z punktu widzenia praktyki lekarskiej, jednocześnie wyjątkowo kontrowersyjny i trudny, został wybrany bardzo ambitnie. Jego realizację przeprowadzono bardzo starannie, z wykorzystaniem prawidłowego warsztatu badawczego. Doktorantka wykazała się dużą wiedzą, skrupulatnością i biegłością interpretacyjną, którą poparła aktualnym piśmiennictwem, trafnie wykorzystanym we wstępie, metodyce i dyskusji.

Równie jednoznaczny jest mój wniosek końcowy: praca pt. „Zmienność stężenia aktywnych metabolitów witaminy D w zależności od pory roku, stanu odżywienia oraz wskaźników uszkodzenia przeszczepionego narządu u pacjentów w odległym okresie po przeszczepieniu nerki” autorstwa lek. med. Joanny Wilimborek wykonana pod kierunkiem dr hab. n. med. prof. UM Ilony Kurnatowskiej spełnia wszystkie kryteria przewidziane odpowiednią ustawą wymagane na stopień doktora nauk medycznych.

W związku z powyższym składam na ręce Pani Dziekan Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. med. Joanny Wilimborek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. n. med. Beata Naumnik

