

Recenzja rozprawy doktorskiej

Lek. Katarzyny Pęczek zatytułowanej: „**Wpływ steroidoterapii na stężenie sirtuiny-1 w osoczu u chorych na glomerulopatie pierwotne**”.

Przewód doktorski prowadzony jest w dziedzinie nauk medycznych.

Białka Sir (*Silent information regulator*), znane powszechniej jako sirtuiny, to grupa białek enzymatycznych należących do grupy deacetylaz histonowych (HDAC), zlokalizowanych w jądrze komórkowym, mitochondrium oraz cytoplazmie. Najbardziej poznanym z nich jest białko SIRT1. Pierwszą sirtuinę wyizolowano w 1984 r. z drożdży i nazwano Sir2. Sirtuinom przypisuje się szeroką rolę w funkcjonowaniu organizmu na poziomie komórki pod postacią posttranslacyjnej modyfikacji białek, wyciszania transkrypcji genów, uruchamiania systemów naprawczych, regulacji procesów metabolicznych – apoptozy, gospodarki węglowodanowo-lipidowej czy wreszcie na intensywność procesu starzenia się. Białka te poprzez czynniki transkrypcyjne z rodziny FOXO nasilają procesy naprawcze DNA, odgrywają funkcję antyoksydacyjną (dzięki stymulacji aktywności dysmutazy nadadtlenkowej i katalazy) oraz zwiększają odporność na stres. Innym białkiem, na które oddziałuje SIRT1 jest białko PGC-1 α . W wątrobie, szczególnie w warunkach mniejszej podaży energii, odpowiada ono za glukoneogenezę i β -oksydację kwasów tłuszczowych. Kolejnym celem działania SIRT1 jest białko p53. Poprzez jego inaktywację sirtuina oddziałuje na apoptozę komórek a także powstawanie tzw. komórek nieśmiertelnych. Dzięki wpływowi na białko p53 a także deacetylacji czynnika FOXO, SIRT1 może zapobiegać procesom degeneracyjnym. Prawdopodobnie na tej drodze dochodzi do ochrony podocytów przed apoptozą. Związek pomiędzy aktywnością SIRT1 a białkomoczem został udokumentowany w dostępnym piśmiennictwie.

Badanie oceny wpływu dużych dawek glikokortykosterydów w leczeniu przewlekłych kłębuszkowych zapaleń nerek na stężenie SIRT1, jako czynnika o potencjalnym działaniu przeciwzapalnym i nerkoochronnym jest głównym tematem przedstawionej mi do oceny dysertacji. Poszukiwanie zależności pomiędzy stężeniami SIRT1 pod wpływem podawania sterydów a wskaźnikami zaburzeń mineralno-kostnych, procesu zapalnego i markerami uszkodzenia kłębuszków nerkowych w tej grupie chorych należy uznać za działanie ze wszech miar cenne i ważne z praktycznego punktu widzenia.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska zgodnie z uchwałą Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi zatytułowana: „**Wpływ steroidoterapii na stężenie sirtuiny-1 w osoczu u chorych na glomerulopatie pierwotne**” obejmuje 9 rozdziałów, w tym wykaz stosowanych skrótów i oznaczeń oraz podsumowanie w postaci streszczenia najważniejszych wyników badawczych. Badanie zostało zaprojektowane jako obserwacyjne badanie prospektywne. Kolejno we wstępie zawartym w rozdziale 1, Kandydatka w sposób obszerny i wyczerpujący, opierając się w głównej mierze na piśmiennictwie z ostatnich 10 lat, omawia definicję, epidemiologię i patogenezę przewlekłej choroby nerek (PChN), rolę sklerostyny w procesach przebudowy tkanki kostnej oraz w procesach zapalnych i regeneracyjnych a także wpływu glikokortykosterydów na aktywność sklerostyny w tej grupie chorych. Ponadto wstęp obejmuje charakterystykę wraz z klasyfikacją histopatologiczną przewlekłych kłębuszkowych zapaleń nerek (PKZN), definicję zespołu nerczycowego, założenia leczenia KZN ze szczególnym uwzględnieniem steroidoterapii oraz zawiera opis działania genomowego i pozagenomowego glikokortykosteroidów. Ostatni podrozdział wstępu zawiera zwięzły aczkolwiek wnikliwy opis działania białek z rodziny sirtuin i wskaźników procesu zapalnego w postaci białka C-reaktywnego i IL-6.

Rozdział 2 zawiera założenia i cele badania obejmujące ocenę wpływu dużych dawek glikokortykosterydów na stężenie SIRT1 w osoczu oraz ocenę zależności pomiędzy SIRT1 w trakcie tego leczenia a białkomoczem, albuminurią, IL-6 i wskaźnikami zaburzeń mineralno-kostnych w tym FGF-23 i sklerostyny. Cele pracy zostały sformułowane jasno i czytelnie.

Rozdział 3 zawiera opis metodyki, kryteria włączenia i wykluczenia z badania, schemat badania, opis analizy laboratoryjnej i statystycznej. Zbiór dokumentów zawiera także łącznie 17 rycin i 13 tabel, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz spis 71 pozycji piśmiennictwa.

Podstawą oceny wyników badania była analiza statystyczna parametrów biochemicznych u pacjentów z pierwotnymi glomerulopatiami leczonych wysokimi dawkami glikokortykosterydów. Doktorantka uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej działającej przy

Uniwersytecie Medycznym w Łodzi (nr RNN/267/17/KE). Kandydatka następnie poddała uzyskane wyniki szczegółowej analizie statystycznej (używając programu komputerowego *STATISTICA* wersję 13.0; PL firmy StatSoft Polska). Do badania według dobrze zaprojektowanego schematu, Doktorantka zakwalifikowała do analizy według kryteriów włączenia i wykluczenia 40 chorych (15 kobiet, 25 mężczyzn), którzy wszyscy ukończyli badanie. Oznaczenia zaplanowanych parametrów odbyły się przed podaniem pulsów sterydów oraz w 4 dniu, tj. po podaniu trzech dawek, w 7 i 30 dniu od rozpoczęcia leczenia. Chorych podzielono na 2 podgrupy wg mediany eGFR- 46 ml/min/1,73m². Wyniki zostały w sposób jasny przedstawione w 13 tabelach i 14 rycinach. W analizie statystycznej zwraca uwagę istotny wzrost stężenia SIRT1 po podaniu 3 pulsów sterydów niezależnie od eGFR. Na szczególną uwagę zasługują wyniki zależności pomiędzy zmianami stężenia sirtuiny oraz sklerostyny w analizie regresji wielokrotnej i to w każdym punkcie badania, zarówno w 4 jak i 7 oraz 30 dniu. Niezmiernie cennym narzędziem analitycznym jest zastosowany model wieloczynnikowy, w którym Kandydatka wykazała największy stopień zmienności stężeń SIRT1 w trakcie sterydoterapii w zależności od zmian stężeń sklerostyny w surowicy. Wyniki badań mogą wskazywać na rolę sirtuiny 1 w regulacji gospodarki mineralno-kostnej.

Kandydatka wykazując się umiejętnością dyskusji otrzymanych wyników, w sposób dojrzały przeprowadziła omówienie wyników w zakresie dostępnego piśmiennictwa w tej tematyce zwracając uwagę na zalety i ograniczenia badania wynikające z liczebności grupy i braku badań pośrednich oceniających metabolizm kostny. Wskazanie czynników ograniczających badanie wskazuje na dojrzałość młodego naukowca umiającego w sposób krytyczny podejść do własnych procesów badawczych i zasługuje na szczególny szacunek.

Wnioski prezentowane w rozdziale 6 odpowiadają na postawione tezy wskazując na występowanie zwiększonego stężenia sirtuiny SIRT1 pod wpływem stosowanych pulsów glikokortykosterydów u chorych na glomerulopatie pierwotne. Wart podkreślenia jest postawiony wniosek występowania zależności pomiędzy SIRT1 oraz sklerostyny w trakcie obserwacji i możliwości wpływu SIRT1 na regulację gospodarki mineralno-kostnej w tej grupie pacjentów. Poszukiwanie nowych rozwiązań terapeutycznych w postaci analogów lub farmakologicznych aktywatorów SIRT1 jest ze wszech miar cenną sugestią dla założeń kolejnych celów naukowo-badawczych.

Z obowiązku recenzenta chciałabym tylko zwrócić uwagę na analizę wyników badań w trakcie zażywania także doustnych glikokortykosterydów, podczas gdy cele badania zawierają ocenę parametrów przy pulsowym podawaniu dużych dawek glikokortykosterydów (strona 25

cel 1) a więc drogą dożylną i w związku z tym proponuję uwzględnić uwagę w trakcie przygotowania i publikacji artykułów tym bardziej, że schemat badania uwzględnia konwersję sterydoterapii z drogi dożylniej na doustną. Również pod tabelą 6 prawdopodobnie przez pomyłkę została wpisana analiza stężenia SIRT1 w osoczu i w moczu (strona 56), a oznaczenia sirtuiny 1 w moczu nie były uwzględniane i oznaczane w niniejszej pracy. Prawdopodobnie omyłkowo zostały tak samo opisane tabele 12 i 13 (strony 61 i 62). Nie umniejsza to jednak wartości pracy i sformułowanych końcowych wniosków.

Wielce Szanowna Pani Dziekan,

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Pęczek jest przykładem kompleksowego, dobrze zaplanowanego badania klinicznego o ważnych implikacjach praktycznych. Wnioski wynikające z pracy powinny utwierdzić w przekonaniu wszystkich lekarzy odpowiedzialnych za leczenie chorych z PKZN o konieczności poszukiwania nowych rozwiązań terapeutycznych a poczynione obserwacje dają podstawy do opracowania dużego grantu naukowo-badawczego pod kątem poszukiwania aktywatorów sirtuin. Kwalifikacja większej liczby uczestników do badania dałaby możliwość podzielenia i obserwacji w podgrupach w zależności o typu histologicznego glomerulopatii. Niemniej jednak jeżeli uznalibyśmy pracę badawczą lek. Katarzyny Pęczek jako badanie pilotażowe to wnioski są niezwykle interesujące i budzące nadzieję na rozwój w tej dziedzinie nowych opcji terapeutycznych.

Mając powyższe na uwadze, wnoszę do Pani Dziekan o dopuszczenie lek. Katarzyny Pęczek do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim, gdyż przedstawiona rozprawa spełnia wszystkie kryteria określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (art. 13. ust. 1 Ustawy z dnia 14.03.2003r; Załącznik do obwieszczenia Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 15 września 2017 r. (poz. 1789) o stopniach i tytule naukowym. Ze względu na jakość i kompleksowość przeprowadzonych badań, niezmierną staranność samej pracy, niewielką ilość publikacji z tego zakresu materiału, głównie dotyczących modeli zwierzęcych i hodowli komórkowych oraz uzyskane wyniki z badania, które z uwagi na powyższe uznaje za nowatorskie -wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Dr hab.n.med. Katarzyna Krzanowska
Prof. UJ
Specjalista chorób wewnętrznych
NEFROLOG
Klinika Nefrologii
3175238
Prof. nzw. dr hab. n.med. Katarzyna Krzanowska

Katarzyna Krzanowska

Katedra i Klinika Nefrologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie