Uniwersytet Jagielloński-Collegium Medicum
Wydział Lekarski
Katedra i Klinika Nefrologii i Transplantologii
30-688 Kraków, ul. Jakubowskiego 2
tel. 12 400 28 50, faks 12 400 28 67

Katedra i Klinika Nefrologii i Transplantologii
Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum w Krakowie

27.04.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. Agnieszki Zapory-Kurel zatytułowanej:

„Ocena roli wybranych czynników wpływających na metabolizm żelaza w cukrzycowej chorobie nerek"

Przewód doktorski prowadzony jest **w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne**

Wśród chorób cywilizacyjnych XXI wieku, oprócz cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, otyłości i chorób sercowo-naczyniowych (SN) należy także przewlekła choroba nerek (PChN) a cukrzyca jest najczęściej prowadzącą chorobą do schyłkowej niewydolności nerek i konieczności rozpoczęcia leczenia nerkozastępczego. Choroba ta jest w tym gronie jednostką szczególną, może być następstwem i powikłaniem wszystkich pozostałych chorób cywilizacyjnych. Chorzy z ubytkiem filtracji kłębuszkowej obciążeni są wysokim ryzykiem powikłań i śmiertelności, głównie z przyczyn SN. Według danych pochodzących z rejestru polskiego na koniec 2020 roku dializowano łącznie 19647 pacjentów, z czego 18847 metodą hemodializy, a 800 metodą dializy otrzewnowej. Wśród przyczyn schyłkowej niewydolności nerek nadal dominowała cukrzycowa choroba nerek (rozpoznania niepotwierdzone biopsją) – u 5449 pacjentów dializowanych (27,7% całości). Kłębuszkowe zapalenie nerek potwierdzone lub niepotwierdzone biopsją było przyczyną schyłkowej niewydolności nerek u 15,4%, a nefropatia nadciśnieniowa u 13,8%. Z uwagi na epidemiologię schyłkowej niewydolności nerek z dominującą przyczyną cukrzycy rozpoczynania dializoterapii wybór tematu rozprawy jest słuszny a analiza wybranych czynników wpływających na metabolizm

żelaza w cukrzycowej chorobie nerek może przyczynić się do wcześniejszego rozpoznania niedokrwistości, istotnego powikłania rozwijającego się w miarę postępu zaawansowania przewlekłej choroby nerek.

Badanie oceny roli wybranych czynników wpływających na metabolizm żelaza w cukrzycowej chorobie nerek jest głównym tematem przedstawionej mi do oceny dysertacji. Poszukiwanie zależności pomiędzy między analizowanymi markerami niedokrwistości w cukrzycowej chorobie nerek takich, jak hepcydyna, rozpuszczalny receptor transferyny (sTfR), czynnik wzrostu i różnicowania 15 (GDF-15), czynnik indukowany hipoksją 1- alfa (HIF-1 alfa) z rutynowo oznaczanymi markerami żelaza i funkcją nerek 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 nr 47/2022 Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 24.02.2022r., zatytułowana: „Ocena roli wybranych czynników wpływających na metabolizm żelaza w cukrzycowej chorobie nerek" obejmuje 8 rozdziałów, w tym wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, wykaz stosowanych skrótów i oznaczeń oraz podsumowanie w postaci streszczenia najważniejszych wyników badawczych.

Kolejno we wstępie zawartym w rozdziale 3, Kandydatka w sposób obszerny i wyczerpujący, opierając się w głównej mierze na piśmiennictwie z ostatnich 10 lat, omawia definicję, epidemiologię cukrzycowej choroby nerek, patogenezę niedokrwistości w przewlekłej chorobie nerek (PChN). Ponadto wstęp obejmuje opis wskaźników stosowanych w diagnostyce anemii z niedoboru żelaza oraz kryteria laboratoryjne stosowane w diagnostyce anemii w grupie chorych z PChN. Ostatni podrozdział opisuje rolę poszczególnych białek biorących udział w regulacji erytropoezy i metabolizmu żelaza, w tym hepcydyny, czynnika indukowanego hipoksją 1 alfa (HIF1 -1α), rozpuszczalnego receptora transferyny (sTfR), czynnika wzrostu i różnicowania 15 (GDF-15).

Rozdział 4 zawiera założenie badania jako analizę zależności między specyficznymi czynnikami wpływającymi na metabolizm żelaza w cukrzycowej chorobie nerek (tj. hepcydyna, rozpuszczalny receptor transferyny-sTfR, czynnik wzrostu i różnicowania 15-GDF-15, czynnik indukowany hipoksją 1 alfa-HIF-1 alfa) z rutynowo oznaczanymi markerami żelaza i funkcją nerek. Cel pracy został sformułowany poprawnie i zrealizowany w cyklu 2 prac spójnych tematycznie.

Ponadto rozdział 4 zawiera opis metodyki, kryteria włączenia, schemat badania, opis analizy laboratoryjnej i statystycznej, wyniki, podsumowanie oraz wnioski. Kryteria włączenia do badania i podział grupy w zależności od wartości eGFR jest jasny i czytelny.

Zbiór dokumentów zawiera także łącznie 3 tabele, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis 55 pozycji piśmiennictwa oraz załączone publikacje stanowiące rozprawę doktorską.

Dodatkowo zostały dołączone oświadczenie Kandydatki i współautorów publikacji o wiodącej roli Doktorantki we współtworzeniu koncepcji, zebraniu materiału do badań, przygotowaniu piśmiennictwa, interpretacji wyników badań, napisaniu manuskryptu i przygotowaniu do publikacji wszystkich 2 prac.

Na analizowaną rozprawę doktorską składają się dwie publikacje, w tym jedna o charakterze poglądowym oraz jedna oryginalnym o autorstwie zbiorowym. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Artykuł oryginalny opublikowany został w renomowanym czasopiśmie o IF- 4,241, MNSiW- 140 pkt, natomiast praca poglądowa została opublikowana w 2021 roku, w *Wiadomościach Lekarskich*, punktacji MNiSW- 20 pkt. **Sumaryczny IF cyklu prac włączonych do rozprawy wynosi 4,241 i punktacji MNiSW- 160 punktów. We wszystkich artykułach Kandydatka potwierdziła znaczący udział własny w przygotowywaniu każdej publikacji składających się na osiągnięcie naukowe.** Ponadto Kandydatka była współautorką 2 prac o łącznej punktacji MNiSW- 20 punktów. Sumaryczny dorobek Kandydatki 4 opublikowanych artykułów wynosi IF- 4,241, MNiSW- 180 punktów.

W pracy poglądowej *„Novel Iron Biomarkers in Chronic Kidney Disease"* wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej, opublikowanej w 2021 r. w czasopiśmie *Wiadomości Lekarskie*, Kandydatka w sposób szczegółowo omówiła związek poszczególnych białek biorących udział w regulacji erytropoezy i metabolizmu żelaza, takich jak hepcydyny, erythroferonu (ERFE), czynnika indukowanego hipoksją 1 alfa (HIF1 -1α), rozpuszczalnego receptora transferryny (sTfR) oraz czynnika wzrostu i różnicowania 15 (GDF-15) wskazując na rolę wykorzystania panelu nowych markerów metabolizmu żelaza do wczesnej diagnostyki niedokrwistości z niedoboru żelaza u osób z przewlekłą chorobą nerek. Doktorantka zwraca uwagę na rolę czynnika HIF, który obniża stężenie hepcydyny przez stymulację erytropoezy. Autorka opisuje mechanizm działania inhibitorów hydroksylazy prolylowej HIF1-alfa (HIF-PHIs - hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors), których działanie prowadzi do nasilenia produkcji EPO, zwiększenia dostępności żelaza i jego wychwytu z przewodu

pokarmowego. Kandydatka podkreśla, że HIF-PHIs obecnie stanowią podstawę zainteresowania jako terapia niedokrwistości u pacjentów z PCHN.

Kolejna publikacja dotyczy już badań własnych. Kandydatka poddała szczegółowej analizie statystycznej (przy użyciu MS Excel (Microsoft, 2020, wersja 16.40, Redmond, WA, USA) i XL Stat (Addinsoft, 2020, wersja 2020.03.01, New York, NY, USA) wyniki badań, które zostały opublikowane po uzyskaniu pozytywnych opinii recenzentów w 2021 roku, w artykule *„Novel Iron Parameters in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus in Relation to Kidney Function"*, w czasopiśmie *Journal of Clinical Medicine* o współczynniku oddziaływania - IF- 4,241; MNiSW-140 pkt.

Do badania zostało włączonych 80 dorosłych pacjentów z cukrzycową chorobą nerek, hospitalizowanych w Klinice Kardiologii Inwazyjnej z OIOK i Pracownią Hemodynamiki Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Grupa kontrolna obejmowała 23 zdrowych ochotników. Mediana wieku zdrowych ochotników była niższa w porównaniu do grupy badanej (50 vs 70 lat) niemniej jednak uzyskanie wyników badanych czynników od zdrowych osób uważam za niezwykle cenne do analizy danych. Wszyscy pacjenci wyrazili świadomą, pisemną zgodę na badanie. Badanie zostało zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (nr zgody: R-I-002/7/2018) oraz przeprowadzone zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej.

Dane kliniczne zebrano na podstawie dokumentacji medycznej. Analizie poddano podstawowe wyniki laboratoryjne: pełna morfologia krwi, parametry zapalne, elektrolity oraz stężenie hepcydyny, HIF1-alfa, GDF-15, sTfR, żelaza i ferrytyny. W grupie badanej dodatkowo oznaczono stężenie BNP i lipidy. Podstawowe badania biochemiczne (morfologia krwi obwodowej, kreatynina, profil lipidowy, BNP) zostały wykonane w Centralnym Laboratorium Klinicznym Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Do oznaczenia stężenia badanych parametrów użyto komercyjnych zestawów opartych na metodzie ELISA. Pacjentów z grupy badanej podzielono na dwie grupy w zależności od wartości eGFR. Grupa pierwsza obejmowała 24 pacjentów z eGFR < 60 ml/min/1,73 m2, a do grupy drugiej z eGFR ≥ 60 ml/min/1,73 m2 zakwalifikowano 56 osób. eGFR w przedziale: 59-30 ml/min/1,73 m2 stwierdzono u 21 pacjentów, 2 pacjentów miało eGFR < 30

ml/min/1,73 m2, natomiast eGFR < 15 ml/min/1,73 m2 -1 pacjent. Szacowany współczynnik przesączania kłębuszkowego (eGFR) obliczano wykorzystując wzór CKD-EPI.

W analizie statystycznej zwraca uwagę istotna statystycznie różnica w zakresie parametrów żelaza pomiędzy pacjentami z eGFR ≥ 60 ml/min/1,73 m2 i < 60 ml/min/1,73 m2 w zakresie ferrytyny i HIF-1 alfa. Porównując powyższe grupy Kandydatka stwierdziła, że pacjenci z eGFR ≥ 60 ml/min/1,73 m2 mieli wyższe stężenie hemoglobiny, ferrytyny i HIF-1 alfa, a niższe stężenie BNP oraz byli młodsi. W badanej grupie hepcydyna była istotnie związana z parametrami żelaza w modelu regresji liniowej.

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. Wskazanie czynników ograniczających badanie wskazuje na dojrzałość młodego naukowca umiejącego w sposób krytyczny podejść do własnych procesów badawczych i zasługuje na szczególny szacunek.

Poszukiwanie nowych rozwiązań diagnostycznych jest ze wszech miar cenne dla założeń przyszłych celów naukowo-badawczych szczególnie w bardziej zaawansowanych stadiach PChN.

Wnioski prezentowane w cyklu prac wskazują na brak istotnego związku badanych wskaźników metabolizmu żelaza z uszkodzeniem nerek w badanej grupie chorych. Wydaje się koniecznością pogłębienie powyższych badań na większej populacji chorych szczególnie w stadiach 3-5 PChN. Cenna jest sugestia Kandydatki, która podkreśla konieczność dalszych badań dotyczących czynnika HIF- 1 alfa jako markera skutecznej terapii niedokrwistości w PChN za pomocą HIF-PHIs.

Z obowiązku recenzenta chciałabym tylko zwrócić uwagę na brak w zbiorze dokumentów pełnej oryginalnej wersji artykułu przeglądowego „Novel Iron Biomarkers in Chronic Kidney Disease" opublikowanego w Wiadomościach Lekarskich w 2021 roku, niemniej jednak pełna treść artykułu jest dostępna online (Wiadomości Lekarskie, 2021; 74(12 p.1):3352-3355). Z roli recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na konieczność umieszczenia kryteriów wykluczenia z badania. Również wniosek pierwszy nie odpowiada na cel badania, jest jednak podsumowaniem wynikającym z praktyki lekarskiej. Nie umniejsza to jednak wartości pracy.

Wniosek końcowy do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Rozprawa doktorska **lek. med. Agnieszki Zapory-Kurel** 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 cukrzycową chorobą nerek o konieczności dalszego poszukiwania nowych markerów metabolizmu żelaza do wczesnego rozpoznania niedokrwistości, istotnego powikłania rozwijającego się w miarę postępu zaawansowania przewlekłej choroby nerek i podjęcia działań terapeutycznych hamujących rozwój powikłań w tej populacji pacjentów. Kwalifikacja większej liczby uczestników do badania szczególnie w zaawansowanych stadiach PChN dałaby możliwość określenia wskaźników niezmiernie użytecznych w praktyce klinicznej do diagnostyki i monitorowania skuteczności terapii niedokrwistości w tej populacji pacjentów.

Mając powyższe na uwadze, wnoszę **do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku** o dopuszczenie **lek. Agnieszki Zapory-Kurel** 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 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.) oraz 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.).

dr hab. n.med., prof. UJ Katarzyna Krzanowska
Katedra i Klinika Nefrologii i Transplantologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

Dr hab.n.med. Katarzyna Krzanowska
Prof. UJ
Specjalista chorób wewnętrznych
NEFROLOG
TRANSPLANTOLOG
KLINICZNY
8179888

Uniwersytet Jagielloński-Collegium Medicum
Wydział Lekarski
Katedra i Klinika Nefrologii i Transplantologii
30-688 Kraków, ul. Jakubowskiego 2
tel. 12 400 28 50, faks 12 400 28 67

Katarzyna Krzanowska