Gdańsk, 14.03. 2017 r.

Dr hab. med. Michał Chmielewski
Klinika Nefrologii, Transplantologii
i Chorób Wewnętrznych
Gdański Uniwersytet Medyczny

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ LEK. KATARZYNY KAKAREKO PT. „WPŁYW NEFREKTOMII NA STĘŻENIE SKLEROSTYNY I WYBRANE WSKAŹNIKI METABOLIZMU KOSTNEGO"

Zaburzenia mineralne i kostne są powszechnym powikłaniem przewlekłej choroby nerek (PChN). Obecne już na wczesnych etapach choroby, nasilają się wraz z progresją niewydolności narządowej. Prowadzą nie tylko do zwiększenia ryzyka złamań kostnych, ale również ryzyka sercowo-naczyniowego, chociażby poprzez kalcyfikację naczyń tętniczych. Przyczyniają się tym samym do pogorszenia, i tak fatalnego, rokowania pacjentów z PChN. Profil zaburzeń mineralnych i kostnych związanych z PChN obejmuje spadek stężenia kalcytriolu, wapnia i białka Klotho, wzrost stężenia parathormonu, fosforanów i czynnika wzrostu fibroblastów 23 (ang. *fibroblast growth factor 23*, FGF-23). Ich klinicznym następstwem jest osteodystrofia nerkowa ze zwiększonym ryzykiem złamań kostnych, hospitalizacji i śmiertelności z przyczyn zarówno ogólnych, jak i sercowo-naczyniowych.

Sklerostyna jest stosunkowo nowym graczem na polu zaburzeń mineralnych i kostnych związanych z PChN. Jest to glikoproteina produkowana przez osteocyty, której główną funkcją jest hamowanie kościotworzenia poprzez wiązanie z receptorami LRP5 i LRP6. Jej stężenie jest podwyższone u pacjentów z PChN i wpływa na ubytek masy kostnej w tej grupie pacjentów, a prawdopodobnie także na powstawanie zwapnień pozaszkieletowych i na śmiertelność ogólną i sercowo-naczyniową. Dlatego badania nad jej metabolizmem w przebiegu PChN są ważne, aktualne i interesujące z klinicznego punktu widzenia.

Jednostronna nefrektomia po raz pierwszy została przeprowadzona w 1869 r. przez Gustava Simona. Obecnie jest rutynowym zabiegiem w leczeniu raka nerki. Pozostałe wskazania obejmują m.in. marskość nerki, kamicę nerkową, wodonercze czy torbiele złożone. Chorzy po nefrektomii charakteryzują się podwyższonym ryzykiem rozwoju PChN, ze wszelkimi jej

konsekwencjami. Osobną grupę pacjentów stanowią dawcy nerki, osoby bez medycznych wskazań do nefrektomii. Są one z reguły zdrowsze, niż odpowiadająca im wiekiem populacja ogólna. Jednak i wśród nich ryzyko rozwoju schyłkowej niewydolności nerek w wieloletniej obserwacji jest kilkukrotnie wyższe w stosunku do osób o podobnej charakterystyce w populacji ogólnej. Poza obciążeniem rokowania pacjentów, jednostronna nefrektomia stanowić może również model umiarkowanej niewydolności nerek, jako że po zabiegu przesączanie kłębuszkowe z reguły spada poniżej 90 ml/min.

Biorąc pod uwagę powyższe dane wszelkie badania mające na celu wyjaśnienie mechanizmów prowadzących do niewydolności nerek i do pogorszenia rokowania osób po jednostronnej nefrektomii są godne uwagi i poparcia. Dlatego temat i cele pracy doktorskiej lek. Katarzyny Kakareko należy uznać za aktualne, interesujące i klinicznie istotne.

Rozprawa jest dziełem składającym się z trzech prac. Dwie z nich to prace oryginalne, w których Doktorantka realizuje szczegółowe cele rozprawy doktorskiej, a mianowicie wpływ jednostronnej nefrektomii na stężenie sklerostyny, jej nerkową eliminację, stężenie białka Klotho, FGF-23 oraz wybranych markerów kościotworzenia i resorpcji kostnej. Trzecia praca ma charakter poglądowy, w którym Autorka, z współpracownikami, opisuje dotychczasowy stan wiedzy na temat wpływu nefrektomii na metabolizm mineralno-kostny.

Przedstawiona do oceny rozprawa ma typowy dla tego rodzaju prac układ. Pierwsze strony zajmuje wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, zestawienie publikacji Doktorantki nie wchodzących do rozprawy, jak również wykaz stosowanych skrótów i oznaczeń. Kolejne trzy strony to wstęp, w którym lek. Katarzyna Kakareko w sposób jasny i precyzyjny przedstawia tło badanych zagadnień, wskazując na zasadność podjętej pracy. Następny rozdział stanowi omówienie prac składających się na rozprawę doktorską. Na czterech stronach Doktorantka opisuje cele, metodykę pracy, przedstawia uzyskane wyniki i wyciągnięte wnioski. Rozdział piąty to publikacje stanowiące rozprawę doktorską, po których następuje streszczenie w języku polskim i angielskim i spis piśmiennictwa. Całość rozprawy zamykają oświadczenia zgody współautorów prac na ich wykorzystanie w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Publikacja pierwsza to artykuł poglądowy pt. „The impact of nephrectomy on bone health", przyjęty do druku w czasopiśmie Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej. W pracy tej

przedstawione zostały aktualne informacje dotyczące wpływu nefrektomii na zaburzenia metabolizmu mineralno-kostnego, jak również na ryzyko powikłań i na rokowanie pacjentów poddanych tej procedurze. Publikacja stanowi wartościowy przegląd obecnego stanu wiedzy, przeprowadzonych badań i dokonań na polu zaburzeń mineralno-kostnych związanych z nefrektomią. Zakres przedstawionych w pracy wiadomości bardzo dobrze świadczy o wiedzy Autorki oraz umiejętności syntetycznego przedstawienia tej skomplikowanej w sumie tematyki. Artykuł jest też doskonałym wstępem dla prac oryginalnych składających się na pozostałą część rozprawy. Pierwsza z nich nosi tytuł „Renal handling of sclerostin in response to acute glomerular filtration decline", a została opublikowana w czasopiśmie Hormone and Metabolic Research. Do prospektywnego obserwacyjnego badania włączonych zostało 25 pacjentów poddanych jednostronnej nefrektomii. Głównym celem była ocena stężenia sklerostyny we krwi, jak również jej nerkowej eliminacji. Druga praca została opublikowana pod tytułem „The effect of nephrectomy on Klotho, FGF-23 and bone metabolism" w czasopiśmie International Urology and Nephrology. Ocenie podlegała ta sama grupa pacjentów powiększona o czterech chorych, którzy zostali wyłączeni z poprzedniej analizy z powodu anurii w okresie pooperacyjnym. Główny cel tej pracy stanowiła ocena wpływu nefrektomii na stężenie białka Klotho, FGF-23 i wybranych markerów kościotworzenia i resorpcji kostnej. Obie prace zostały napisane w sposób jasny i przejrzysty, metodyka prac, w tym również analiza statystyczna, wydaje się dobrana prawidłowo, a uzyskane wyniki nie budzą wątpliwości. Na ich podstawie Doktorantka wyciąga następujące wnioski:

1. Zmniejszenie GFR powoduje zwiększone wydalanie sklerostyny w celu zachowania stałego stężenia tego białka we krwi.
2. W przypadku znaczącego ubytku GFR dochodzi do wyczerpania zdolności mechanizmów kompensacyjnych i retencji sklerostyny we krwi.
3. Nefrektomia nie wpływa na stężenie c-FGF-23, powoduje natomiast redukcję stężenia Klotho w krótkim okresie po zabiegu.
4. Związane z nefrektomią zmiany w stężeniu markerów kościotworzenia, jak i resorpcji mogą wskazywać na rozwój zaburzeń kostnych po zabiegu usunięcia nerki.

Z obowiązku recenzenta przedstawiam moje, nieliczne, uwagi, które nasunęły mi się w trakcie studiowania rozprawy:

1. Wydaje się, że uzyskane wyniki w ograniczonym jedynie stopniu pozwalają na wyciągnięcie wniosku nr 2. To prawda, że w analizowanej grupie pacjentów wzrost stężenia sklerostyny korelował ze spadkiem przesączania kłębuszkowego. Jednak po pierwsze, eGFR wskutek nefrektomii zmniejszył się średnio o 20 ml/min do wartości końcowej wynoszącej 67,7 ml/min. Trudno więc mówić o znaczącym ubytku GFR. Po drugie, średnie stężenie sklerostyny we krwi pozostało niezmienione pomimo nefrektomii i związanym z nią spadkiem eGFR. Po trzecie, z ryciny 2b na str. 34 wynika, że akurat u dwójki pacjentów z największym spadkiem eGFR wynoszącym około 60 ml/min, stężenie sklerostyny pozostało praktycznie bez zmian.
2. Wątpliwości budzi włączenie do analizy czterech pacjentów, u których w okresie pooperacyjnym wystąpiła anuria. W szczególności zastrzeżenia rodzi wyliczanie eGFR u tych chorych na podstawie wzoru CKD-EPI i użycie tych danych w analizach statystycznych badania. Należy jednak podkreślić, iż w pracy znajduje się informacja, że Autorka powtórzyła wszelkie obliczenia wyłączając ww. chorych z analizy i uzyskała porównywalne wyniki.
3. W charakterystyce badanej populacji wartościowym dodatkiem byłaby informacja na temat stosowanych u pacjentów leków. Najpewniej nie przyjmowali preparatów wapnia, witaminy D, czy leków wiążących fosfor w przewodzie pokarmowym. Jednak już np. leki moczopędne i/lub insulina u pacjentów z cukrzycą mogłyby mieć wpływ na uzyskane wyniki.
4. We wstępie rozprawy zabrakło informacji na temat fizjologicznej regulacji sekrecji sklerostyny. Glikoproteina ta jest głównym „bohaterem" niniejszej rozprawy, informacje na temat czynników stymulujących i hamujących jej produkcję i sekrecję pozwoliłyby czytelnikowi na głębsze zrozumienie mechanizmów i znaczenia zaburzeń metabolizmu sklerostyny w przebiegu PChN.

Wyżej wymienione uwagi nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej przeprowadzonych badań, znaczącej pracy włożonej przez Doktorantkę w zaplanowanie pracy, przeprowadzenie analiz, obliczeń statystycznych i przygotowanie publikacji, jak

również samej rozprawy doktorskiej. Doktorantka wykazała się szeroką wiedzą, dużą dojrzałością w zakresie przeprowadzania badań i analizowania uzyskanych wyników.

W związku z tym stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa pt. „Wpływ nefrektomii na stężenie sklerostyny i wybrane wskaźniki metabolizmu kostnego" spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim. Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Katarzyny Kakareko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. med. Michał Chmielewski