Zabrze, dnia 25.08.2020r.

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Magdaleny Zakrzewskiej

pt. **Stężenie adropiny i iryzyny w surowicy u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i współistniejącą cukrzycą typu 2 lub przewlekłą chorobą nerek**

Pierwotne nadciśnienie tętnicze, cukrzyca i przewlekła choroba nerek to triada chorób, które w XXI wieku stanowią istotny problem medyczny wielu krajów świata. Każda z tych chorób jest nieuleczalna oraz niesie za sobą ryzyko wystąpienia obciążających organizm powikłań, co ogranicza jakość życia chorych, zwiększa ich chorobowość, częstokroć prowadzi do przedwczesnego inwalidztwa i skraca oczekiwany czas życia. Dzieje się tak mimo ogromnego postępu wiedzy dotyczącej patogenezy tych schorzeń i metod terapii. Obserwacje kliniczne wskazują, że nadciśnienie, cukrzyca i przewlekłą choroba nerek często ze sobą współwystępują a ich najczęstszym powikłaniem są choroby sercowo-naczyniowe. I mimo wielu lat klinicznych obserwacji i badań, świadomi jesteśmy dziś, że nie wiemy jeszcze wszystkiego, a wiedza nasza nie wystarcza do wdrożenia tak efektywnej jak oczekujemy profilaktyki, wczesnej diagnostyki ani terapii. Dlatego tak wartościowe są nadal wszelkie badania prowadzone w tym temacie.

Doktorantka zajęła się w swojej pracy tematem pierwotnego nadciśnienia tętniczego i współtowarzyszącej mu cukrzycy typu 2 oraz przewlekłej choroby nerek, w aspekcie łączących je nowych szlaków patogenetycznych ingerujących w gospodarkę energetyczną ustroju. Bazując na danych literaturowych wybrała Ona do analizy dwa hormony polipeptydowe opisywane w literaturze jako biomarkery metabolizmu tkanki tłuszczowej i tkanki mięśniowej: iryzynę oraz adropinę. Zaplanowała badanie ich stężenia w surowicy osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym oraz chorobami towarzyszącymi, tj. cukrzyca typu 2 i przewlekła choroba nerek. Z założenia to bardzo ciekawy temat badań rokujący wysunięcie wartościowych wniosków.

Praca ma układ typowy dla rozpraw doktorskich i liczy 103 strony. Zawiera spis treści, wykaz skrótów, wstęp, założenia i cele pracy, opis materiału i metodyki badań, wyniki badań z tabelami i rycinami, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim i języku angielskim oraz piśmiennictwo.

We wstępie Autorka przedstawiła najważniejsze informacje dotyczące nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2 i przewlekłej choroby nerek. Opisała m.in. ich definicję, klasyfikację, kryteria rozpoznawania, podstawowe zasady diagnostyki i terapii. W dalszej części zawarła opis adropiny i iryzyny w aspekcie ich syntezy, funkcji oraz metabolizmu w fizjologii, a także szeroko omówiła zmiany obserwowane w nadciśnieniu tętniczym, cukrzycy typu 2 i przewlekłej chorobie nerek.

Autorka sformułowała 3 cele pracy. Dwa ostatnie wymagają doprecyzowania i korekty edytorskiej (str. 24). Analizując tekst pracy wnioskuję, że celami pracy były: ocena stężenia iryzyny i adropiny w surowicy pacjentów z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu do osób zdrowych, ocena stężenia (a nie korelacji) stężenia iryzyny i adropiny w surowicy w grupie chorych z nadciśnieniem tętniczym i współwystępującą cukrzycą typu 2 lub przewlekłą chorobą nerek, a także ocena korelacji stężenia iryzyny i adropiny w surowicy oraz wybranych parametrów biochemicznych i parametrów oceniających funkcję serca (ciśnienie tętnicze, tętno, wybrane parametry badania ultrasonograficznego mięśnia sercowego).

Badania przeprowadzono w grupie 219 osób, w tym u 198 chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, wśród których 45% miało współistniejącą cukrzycę a 14% przewlekłą chorobę nerek. Grupę kontrolną stanowiło 21 zdrowych ochotników. Zwraca uwagę mała liczebność grupy kontrolnej oraz podgrupy osób z przewlekłą chorobą nerek. O małej liczebności tych grup wspomina sama Autorka w opisie metodyki badania, uznając ten fakt za jego ograniczenie. W aspekcie powyżej wspomnianej niewielkiej liczebności grupy, dużego rozrzutu wartości szacowanej filtracji kłębuszkowej od 8.2 do 151.3 ml/min/1.73m^2 (*vide* tabela 6, str. 39) i braku ustalonej pierwotnej przyczyny uszkodzenia nerek zarówno analiza wyników uzyskanych w grupie chorych z przewlekłą chorobą nerek, jak i wnioskowanie mogą być problematyczne.

Z obowiązku recenzenta przedstawiam poniżej uwagi, które nasunęły się podczas czytania pracy:

Opis kryteriów rozpoznania nadciśnienie tętniczego jest ogólny i nie precyzuje podstaw rozpoznania nadciśnienia pierwotnego, co należałoby uzupełnić przy planowanej publikacji badania. Brakuje danych dotyczących czasu trwania nadciśnienia tętniczego, cukrzycy i przewlekłej choroby nerek.

Zacytowane wzory MDRD i CKD-EPI to skrócone wzory na szacowaną filtrację kłębuszkowa a nie klirens kreatyniny. Oba wzory są napisane niezrozumiale np. wzór MDRD ma, wprowadzający w błąd, linijny zapis nie uwzględniający potęg o wykładniku ujemnym (str.29).

W aspekcie ingerencji iryzyny i adropiny w homeostazę metaboliczną (węglowodanową i lipidową) organizmu korzystne byłoby porównanie grupy badanej i grupy kontrolnej w zakresie wskaźnika masy ciała (BMI), rozkładu płci i wyników podstawowych badań laboratoryjnych, w tym stężenia w surowicy kwasu moczowego, glukozy, lipidogramu.

Metodyka pracy mogłaby być opisana w sposób bardziej zwarty i zawierać wypunktowane: kryteria włączenia i wykluczenia, pobranie materiału do badań, wykonanie UKG, wykonanie pomiarów antropometrycznych, zebranie wywiadu rodzinnego, analiza dokumentacji medycznej (w tym chorób współistniejących i leków) itp.

W charakterystyce grupy kontrolnej opis wyników stężenia kreatyniny w surowicy w tekście różni się od tego, który znajduje się w tabeli nr 1 (str. 35).

W rozdziale 2 „Charakterystyka grupy badanej" napisano, że „nie obserwowano wśród przedstawionych wyników istotnych odchyleń od normy" (str. 37-38). Tymczasem w cytowanej tabeli stężenie hemoglobiny waha się od 9.7 do 17.5g/dl, minimalna liczba erytrocytów wynosi 2.3mln/ul, płytek – 116 tys/ul (złe jednostki!), stężenie sodu w surowicy 128mmol/l, stężenie potasu w surowicy 3.3mmol/l, zaś maksymalne wartości glikemii to 196mg/dl, AlAt 128IU/l, MCV 105 fl, a hematokrytu 101%. Dyskusyjne jest także jakie choroby współistniejące spowodowały tak skrajne wyniki badań i czy miały one wpływ na analizowane parametry (stężenie iryzyny i adropiny).

Ujednolicenia w tytule i w treści pracy wymaga materiał biologiczny w którym oznaczano stężenie iryzyny: w surowicy lub w osoczu.

Zgoda Komisji Bioetycznej znajduje się przypadkowo w podrozdziale „Opracowanie statystyczne wyników badań".

Godna docenienia jest duża liczba przeprowadzonych analiz statystycznych. Jednakże ich interpretacja byłaby znacznie łatwiejsza gdyby dołączyć podrozdział „Podsumowanie wyników", wymieniając w nim w punktach wykazane związki znamienne statystycznie. Alternatywnie takie podsumowanie mogłoby mieć formę tabelaryczną.

Uzyskane wyniki badań są opisane w tekście niejednolicie jako mediana (środkowa wartość) lub średnia. Analizę ułatwiłoby zaznaczenie w tabelach jaki rozkład ma dany parametr (tj. czy rozkład jest normalny). W literaturze częściej stosuje się słowo „mediana" zamiast „środkowa wartość".

Rozdział „Wyniki badań" zawiera liczne podrozdziały i 51 rycin. Moim zdaniem ich opis jest mało czytelny. Np. cytuję tytuł podrozdziału 3.8.: „Stężenie adropiny w surowicy u pacjentów należących do grupy badanej z przewlekłą chorobą nerek a grupą kontrolą" (str.47). Stąd też tytuły podrozdziałów 3.3 i 3.3.1 (str. 42) oraz 4.3 i 4.3.1 (str.60) są właściwie identyczne. Proponowałabym w przyszłych publikacjach z tego tematu zastosować prosty schemat opisu grup: grupa kontrolna, grupa chorych z nadciśnieniem tętniczym, grupa chorych z nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą typu 2, grupa chorych z nadciśnieniem tętniczym i przewlekłą chorobą nerek. Analizę danych ułatwiłaby zbiorcza lista tabel i rycin dołączona do pracy.

W rozdziale 3.2 pomyłkowo napisano w tekście, że minimalna wartość stężenia adropiny była niższa w grupie kontrolnej niż w grupie badanej, czemu przeczą wyniki liczbowe i rycina 1 (str. 41).

W wynikach pojawia się analiza wybranych parametrów badania ultrasonograficznego serca. co nie jest uwzględnione w metodyce badania. W podrozdziale 3.11 (str. 56) opisywana jest korelacja stężenia adropiny z nieprecyzyjnie określonym „wymiarem lewej komory serca".

Podsumowując uzyskane przez Doktorantkę wyniki, są one bardzo ciekawe. Autorka wykazała bowiem znamiennie niższe stężenie iryzyny w surowicy w grupie chorych z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu do osób zdrowych z grupy kontrolnej.

Chorzy z nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą typu 2 mieli znamiennie niższe stężenie adropiny i iryzyny w surowicy niż chorzy bez cukrzycy i osoby z grupy kontrolnej. Chorzy z przewlekłą chorobą nerek (PChN) nie różnili się stężeniem adropiny od chorych bez PChN ani od osób z grupy kontrolnej, ale mieli znamiennie niższe stężenie iryzyny w surowicy w stosunku do w/w grup.

Chorzy z nadciśnieniem tętniczym i chorobą wieńcową oraz grupa osób po zawale sercowego miała znamiennie niższe zarówno stężenie adropiny, jak i iryzyny w surowicy w porównaniu do osób z nadciśnieniem tętniczym bez w/w obciążeń.

Autorka stwierdziła w całej badanej grupie osób z nadciśnieniem tętniczym korelację stężenia adropiny i iryzyny w surowicy ze stężeniem kreatyniny w surowicy (korelacja ujemna), eGFR (korelacja dodatnia), nie stwierdziła natomiast takich zależności w podgrupach chorych z wywiadem cukrzycy typu 2 ani PChN.

Znamienny związek stężenia adropiny i iryzyny ze stężeniem hemoglobiny (korelacja dodatnia), oraz cholesterolu całkowitego w surowicy (korelacja dodatnia) stwierdzany w całej

grupie osób z nadciśnieniem tętniczym nie występował w podgrupie chorych z nadciśnieniem i cukrzycą typu 2.

W grupie osób z nadciśnieniem tętniczym stężenie adropiny korelowało dodatnio z wartością ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi oraz frakcją wyrzutową lewej komory serca, zaś ujemnie z „wymiarem lewej komory serca" (prawdopodobnie chodzi o wymiar jej tylnej ściany).

Autorka stwierdziła w grupie osób z nadciśnieniem tętniczym ujemną korelację stężenia iryzyny w surowicy z częstością akcji serca, a u osób ze współwystępującą cukrzycą typu 2 - dodatnią korelację ze skurczowym ciśnieniem tętniczym oraz frakcją wyrzutową lewej komory serca.

Wnioski w swojej treści nie do końca odpowiadają postawionym celom i uzyskanym wynikom. Trudno np. na podstawie wyników spekulować na temat przyczyny obserwowanych zaburzeń; przykładowo trudno wnioskować o związku insulinooporności z niskim stężeniem iryzyny w surowicy (*vide* wniosek 3, str. 88). Proponowałabym ograniczyć się do odpowiedzi na cele pracy, przykładowo:

W grupie chorych z nadciśnieniem tętniczym stwierdza się znamiennie niższe stężenie iryzyny w surowicy niż u osób zdrowych. Chorzy z nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą typu 2, chorobą wieńcową oraz po zawale sercowego mają znamiennie niższe stężenie w surowicy zarówno adropiny, jak i iryzyny w porównaniu do osób z nadciśnieniem tętniczym bez wyżej wymienionych chorób towarzyszących. W grupie osób z nadciśnieniem tętniczym stężenie adropiny i iryzyny w surowicy koreluje ujemnie ze stężeniem kreatyniny w surowicy a dodatnio z filtracją kłębuszkową (eGFR) i stężeniem cholesterolu całkowitego w surowicy, tymczasem samo stężenie adropiny w surowicy koreluje dodatnio z wartością ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi oraz frakcją wyrzutową lewej komory serca. itd.

W dyskusji Doktorantka odniosła wyniki swoich badań do danych literaturowych, wykazując częściową ich zbieżność z obserwacjami innych autorów. W rozdziale tym starała się również wyakcentować aspekt przyczynowy obserwowanych zmian, podkreślając rolę metaboliczną tkanki tłuszczowej i tkanki mięśniowej.

Wartościowe jest dostrzeżenie przez Autorkę ograniczeń pracy. Trafnie zaznacza Ona, że celowe byłoby prowadzenie dalszych badań w tym temacie, jednakże w większych i jednorodnych grupach badanych.

Piśmiennictwo liczy 92 pozycje, z których niemal wszystkie są publikacjami aktualnymi, opublikowanymi w ostatniej dekadzie. W pozycji 78, 79 piśmiennictwa brak roku wydania.

Streszczenie mogłoby być krótsze i bardziej zwięzłe w treści oraz powinno zawierać zmodyfikowane cele i wnioski pracy.

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej ocenianej rozprawy na stopień doktora nauk medycznych, która wnosi wartościowe elementy poznawcze w zakresie patofizjologii nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2, przewlekłej choroby nerek i choroby wieńcowej. Wskazuje bowiem na wspólne szlaki najważniejszych przewlekłych chorób cywilizacyjnych, u podstawy których leży wpływ na gospodarkę energetyczną ustroju.
Szerokie spektrum przeprowadzonej analizy statystycznej skutkujące mnogością uzyskanych wyników nie ułatwiło pracy Doktorantce i z tego właśnie mogą wynikać moje uwagi. Moim zdaniem praca wymaga jedynie selekcji danych i ich uporządkowania przed planowaną publikacją, celem zwiększenia jej wartości. Przygotowując pracę do druku należy również dokonać korekty edytorskiej (błędy literowe).

Uważam, że przedstawiona mi do oceny praca stanowi oryginalne i wartościowe dokonanie Doktorantki. Świadczy o Jej samodzielności, wiedzy w temacie nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2 i przewlekłej choroby nerek oraz opanowaniu warsztatu naukowego. Uzyskane wyniki są zbieżne z danymi literaturowymi i potwierdzają występowanie w przypadku wymienionych chorób zmian stężenia w surowicy adropiny i iryzyny - związków włączonych w homeostazę energetyczną organizmu, sugerując wspólne szlaki patofizjologiczne. Wyniki są bardzo obiecujące i wskazują na celowość prowadzenia dalszych badań.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 1789).

Oceniając pracę jak najbardziej pozytywnie, wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Magdaleny Zakrzewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Joanna Żywiec

dr hab n. med. Joanna Żywiec
specjalista chorób wewnętrznych
specjalista nefrolog
9362580