

Gdańsk 2024.01.03

Prof. dr hab. n. med.

Leszek Tylicki

Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Gdański Uniwersytet Medyczny

Ocena pracy na stopień doktora nauk medycznych lek. Pauliny Działalek-Macioszczyk pt.:
„Białka USP18 i Dkk3 w chorobach nerek i układu sercowo-naczyniowego”.

Przewlekła choroba nerek (PChN) jest znaczącym problemem zdrowia publicznego, dotyczącym zarówno podstawowej, jak i specjalistycznej opieki zdrowotnej. Choruje na nią kilkanaście procent światowej populacji i odsetek ten systematycznie rośnie. Do najpoważniejszych w skutkach powikłań PChN należą te dotyczące układu sercowo-naczyniowego: u osób w 3 stadium PCHN ryzyko powikłań sercowo-naczyniowych jest od 40 do 100% większe niż w pozostałej populacji. Mechanizmy prowadzące do postępującego uszkodzenia nerek jak również patogeneza powikłań sercowo-naczyniowych w PChN są przedmiotem badań od wielu dziesięcioleci. W ostatnich latach wykryto nowe grupy białek biorących udział w procesach przewlekłego uszkodzenia nerek i mięśnia sercowego. Należą do nich białka z rodzin USP oraz Dkk. Przeprowadzenie badań w zakresie roli USP18 i Dkk3 w tych procesach uważam za ważną nie tylko z punktu widzenia naukowej ciekawości ale również z powodu potencjalnego przełożenia na praktykę kliniczną. Celowość podjęcia tego tematu uzasadnia zresztą w sposób przekonujący doktorantka we wstępie do rozprawy doktorskiej.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Pauliny Działalek-Macioszczyk składa się z cyklu trzech prac - jednej poglądowej i dwóch oryginalnych, opublikowanych w recenzowanych czasopiśmie o łącznym wskaźniku oddziaływania (impact factor - IF) - 7.97 i punktacji MNiSW 350. Oświadczenia współautorów publikacji wskazują, że współudział doktorantki w ich powstaniu był dominujący i wynosił odpowiednio 90%, 80% i 60%. Jak wskazują współautorzy, brała ona udział we wszystkich etapach procesu badawczego oraz procesu edytorskiego przy tworzeniu tych publikacji.

Celem rozprawy była analiza zależności między stężeniem białka USP18 w surowicy a występowaniem nadciśnienia tętniczego oraz ocena związku tego białka z czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego. Drugim celem rozprawy była analiza zależności między stężeniem białka Dkk3 w surowicy i moczu pacjentów w różnych stadiach PChN a klinicznymi, laboratoryjnymi i histopatologicznymi wskaźnikami aktywności chorób nerek. W celu realizacji pierwszego celu doktorantka przeprowadziła przekrojowe, pilotażowe badanie na 79 mężczyzn biorących udział w projekcie PrOM prowadzonym przez Klinikę Nefrologii, Hipertensjologii i Chorób Wewnętrznych oraz Katedrę Patofizjologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie w latach 2014-2017. Wykazała, że stężenie USP18 jest istotnie wyższe u osób we wczesnej fazie nadciśnienia tętniczego skurczowo-rozkurczowym bez albuminurii niż w grupie bez nadciśnienia. Po uwzględnieniu wpływu typowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego wykazano istotną niezależną korelację między stężeniem USP18 a skurczowym ciśnieniem tętniczym, ciśnieniem tętna oraz częstością rytmu serca. Na podstawie powyższych wyników wysunęła hipotezę, że do wzrostu stężenia USP18 dochodzi w przypadku zwiększenia obciążenia lewej komory serca oraz subklinicznego uszkodzenia kardiomiocytów. Wyniki tych badań przedstawione zostały w doświadczalnej pracy nr 1 opublikowanej w czasopiśmie *Medical Science Monitor* w roku 2020. W celu realizacji drugiego celu doktorantka przeprowadziła drugie badanie doświadczalne w którym analizowała stężenie białka Dkk3 w surowicy i moczu u 100 pacjentów, których podzielono na 5 podgrup w zależności od charakteru i stopnia uszkodzenia nerek. Najistotniejszą obserwacją było wykazanie, że najwyższe stężenie Dkk3 w moczu obserwuje się u pacjentów z PChN w stadium 3-5, które znacznie przewyższa wartości obserwowane u osób zdrowych, osób z kłębuszkowym zapaleniem nerek i białkomoczem oraz osób po transplantacji nerek z prawidłową funkcją graftu. Ponadto, stężenie Dkk3 w moczu w grupie po przeszczepieniu nerki z prawidłową funkcją graftu było dwukrotnie wyższe niż w populacji bez chorób nerek oraz grupie z kłębuszkowym zapaleniem nerek i białkomoczem. Doktorantka wskazuje, że wysokie stężenie Dkk3 mogą wynikać z nasilonego uszkodzenia cewek oraz zaawansowanego stopnia włóknienia narządu. Wyniki tych badań przedstawione zostały w doświadczalnej pracy nr 2 opublikowanej w czasopiśmie *Journal of Clinical Medicine* w roku 2023. W podsumowaniu cyklu w/w badań, doktorantka stwierdza, że wykonane badania potwierdzają potencjalną rolę białek USP18 i Dkk3 jako biomarkerów wczesnego uszkodzenia odpowiednio serca i nerek. Dopelnieniem rozprawy doktorskiej jest niezwykle merytoryczna praca pogładowa, opublikowana w czasopiśmie *Acta Biochimica Polonica*, w której doktorantka omówiła budowę, mechanizmy działania oraz rolę białka USP18 w

odpowiedzi na czynniki infekcyjne, w procesie karcynogenezy, w rozwoju chorób z autoagresji oraz remodelingu mięśnia sercowego.

Wszystkie 3 opublikowane prace stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej zostały pozytywnie zrecenzowane przez niezależnych, międzynarodowych recenzentów i cechują się wysokim poziomem merytorycznym zarówno jeśli chodzi o zastosowaną metodykę badań, dobór pacjentów, analizę, prezentację wyników jak i wnioskowanie. Na szczególne wyróżnienie zasługuje szczegółowo i profesjonalnie przeprowadzona analiza statystyczna wyników. Przeprowadzona dyskusja i konfrontacja wyników własnych z wcześniejszymi badaniami jest merytoryczna i wskazuje na dużą wiedzę doktorantki. Posiłkuje się w niej ona 85 wcześniej opublikowanymi pracami dotyczącymi badanych zagadnień, których dobór nie budzi zastrzeżeń.

Trzy publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorantka poprzedziła merytorycznie informatywnym streszczeniem. Cele prowadzonych badań sformułowała w sposób jasny i klarowny. Każdą z prac Autorka w zwięzły sposób omówiła a wyniki swoich badań szczegółowo podsumowała w sześciu wnioskach.

Z obowiązku recenzenta pragnę przedstawić kilka uwag krytycznych dotyczących nielicznych niedoskonałości pracy lub też popełnionych przez Autora niezręczności:

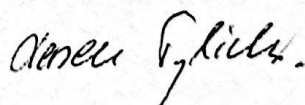
1. Wątpliwości recenzenta budzi dobór liczebność grupy badanej w pierwszej pracy doświadczalnej. Jak podano w pracy - do badania włączono 79 mężczyzn spośród 631 pacjentów badanych w programie ProM. Dlaczego wybrano taką małą liczebność? Czy przeprowadzono wyliczenie wielkości próby (sample size calculations)? Biorąc pod uwagę podział grupy badanej na 3 podgrupy i porównanie ze sobą trzech podgrup rodzi się obawa, że liczebność w podgrupach mogła nie pozwolić na wykazanie wszystkich różnic jako istotne i pozwoliła tylko na wnioskowanie o charakterze pilotażowym.
2. Wnioski nr 1 i 4 przedstawione w streszczeniu pracy doktorskiej są zbyt daleko idące. Nie wynikają z uzyskanych wyników przez doktorantkę. Mają charakter hipotezy, która zawarta może być w dyskusji, nie zaś we wnioskach pracy. Równocześnie doktorantka nie umieściła we wnioskach streszczenia głównego wyniku pracy numer 1 wskazującego, że stężenie USP18 jest istotnie wyższe u osób we wczesnej fazie nadciśnienia tętniczego skurczowo-rozkurczowego niż w grupie bez nadciśnienia. Nadmienić trzeba w tym miejscu jednak, że w opublikowanej pracy doświadczalnej będącej przedmiotem rozprawy wnioski sformułowane zostały prawidłowo.

3. W kilku fragmentach streszczenia rozprawy Autorka pracy przytacza tezy bez odniesienia do konkretnych pozycji oryginalnego piśmiennictwa. Dotyczy to tez prezentowanych w pierwszych paragrafach na stronie 3 i 4.
4. Wartościowe dla rozprawy byłoby wskazanie i krytyczne przedyskutowanie przez doktorantkę pewnych ograniczeń obu prac doświadczalnych o których wspomina ona sama w treści artykułów. Można byłoby to zrobić w treści streszczenia rozprawy lub w odrębnie wydzielonym rozdziale

Przedstawione przeze mnie uwagi dotyczące recenzowanej pracy w żaden sposób nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej lek. Pauliny Działatek-Macioszczyk. Biorąc pod uwagę nowatorstwo podjętych badań stanowi ona istotny wkład do dotychczasowej wiedzy, a także, co warto podkreślić, jest przykładem przydatnej klinicznie pracy badawczej. Kontynuacja rozpoczętych przez nią badań, które należy traktować jako pilotażowe może utarować drogę do korzystania z badanych przez doktorantkę biomarkerów w codziennej praktyce.

Po zapoznaniu się z przedstawioną mi pracą i po szczegółowej analizie stwierdzam, że rozprawa doktorska przygotowana przez lek. Pauliny Działatek-Macioszczyk odpowiada warunkom określonym w art.13 ust. 1. Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Załącznik do obwieszczenia Marszałka Sejmu RP z dnia 2 grudnia 2014 roku – Dz. U. poz. 1852). W oparciu o powyższą ocenę, stawiam wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olszynie o dopuszczenie lek. Pauliny Działatek-Macioszczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku



Prof. dr hab. med. Leszek Tylicki