

Dr hab. n. med. Dagmara Borzych-Dużałka

Gdańsk, 12.01.2022

Katedra i Klinika Pediatrii, Nefrologii i Nadciśnienia

Gdański Uniwersytet Medyczny

Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

dagmara.borzych-duzalka@gumed.edu.pl

Ocena rozprawy doktorskiej

Lek. med. Marcina Kołbuca

pod tytułem

Zaburzenia homeostazy magnezu i kwasu moczowego u dzieci z wadami nerek i układu
moczowego na podłożu mutacji genu *HNF1B*

1. Przebieg kariery zawodowej lek. med. Marcina Kołbuca.

Lekarz Marcin Kołbuc ukończył studia medyczne w 2012 roku. W 2019 roku, po odbyciu szkolenia specjalizacyjnego w SZOZ nad Matką i Dzieckiem w Poznaniu uzyskał specjalizację z pediatrii. Od tego czasu jest pracownikiem Collegium Medicum Uniwersytetu Zielonogórskiego na etacie dydaktycznym, a następnie badawczo-dydaktycznym.

2. Ocena rozprawy doktorskiej

Wady wrodzone układu moczowego (ang. Congenital Anomalies of Kidney and Urinary Tract – CAKUT) stanowią około 20% wszystkich wad rozwojowych i rozpoznawane są z częstością 3-7 na 1000 żywo urodzonych noworodków. Stanowią one najczęstszą przyczynę SNN (schyłkowej niewydolności nerek) u dzieci, odpowiadając łącznie za 40-50% przypadków. CAKUT mogą występować sporadycznie i mieć charakter izolowany, występować rodzinnie lub wchodzić w skład zespołów genetycznych. Najczęstsze zidentyfikowane monogenowe podłoże molekularne CAKUT stanowią mutacje w genach *PAX2* i *HNF1B*.

Gen *HNF1B*, zlokalizowany na chromosomie 17, koduje hepatocytowy czynnik jądrowy 1β (*HNF1β*), który jest czynnikiem transkrypcyjnym organogenezy nerek, dróg moczowych, wątroby, trzustki oraz przytarczyc. Pacjenci będący nosicielami mutacji w genie *HNF1B*

prezentują szeroki wachlarz fenotypów nerkowych obejmujących wiele anomalii takich jak hiperechogenne nerki z zatarciem zróżnicowania korowo-rdzeniowego, torbiele nerek, hipodysplazje nerek, agenezję nerki czy nerkę podkowiastą. Ponadto, z uwagi na wpływ czynnika *HNF1B* na ekspresję genów kodujących cewkowe transportery jonowe w nefronie, chorzy mogą prezentować zaburzenia biochemiczne, takie jak hipomagnezemia z hipermagnezurią, hipokaliuria czy hipokaliemia. Pozanerkowa manifestacja mutacji obejmuje występowanie cukrzycy typu MODY5, zaburzeń neurologicznych, wad narządów płciowych oraz dysfunkcji wątroby. Zróżnicowany obraz kliniczny niejednokrotnie skutkuje trudnościami diagnostycznymi i opóźnia kwalifikację do badań molekularnych, podczas gdy identyfikacja nosicieli mutacji pozwala na weryfikację rozpoznania, wdrożenie spersonalizowanego postępowania terapeutycznego oraz poradnictwa genetycznego.

Kandydat jako główny cel rozprawy doktorskiej wskazuje ocenę częstości występowania zaburzeń homeostazy magnezu i kwasu moczowego u dzieci z mutacją genu *HNF1B*, w oparciu o pediatryczne wartości referencyjne. Celami dodatkowymi były: 1) ocena związku przyczynowego pomiędzy hiperurykemią i mutacją genu *HNF1B* oraz 2) ocena przydatności klinicznej hipomagnezemii i hiperurykemii jako predyktorów nefropatii *HNF1B*.

Przedstawiona do oceny dysertacja obejmuje cykl 3 oryginalnych, spójnych tematycznie publikacji. Zostały one opatrzone wykazem stosowanych skrótów, streszczeniem w języku polskim i angielskim, wprowadzeniem, jasnym opisem celów oraz przedstawieniem wniosków. Przegląd piśmiennictwa oparty jest o najważniejsze i najnowsze doniesienia światowe w zakresie tematyki badań. Pewnym mankamentem wydaje się być brak opisu metodologii badań i analiz statystycznych, zawartych jedynie w publikacjach. Zwięzły opis ułatwiłby czytanie pracy. Nie zmienia to faktu, iż w każdej z prac w sposób precyzyjny opisano metodykę badań, a analizy statystyczne zostały dobrane właściwie.

Wszystkie artykuły wchodzące w skład rozprawy opublikowane zostały w anglojęzycznych czasopismach o łącznym współczynniku IF 8.695 i punktacji MNiSW 350. W dwóch artykułach Doktorant jest pierwszym, a w jednym drugim autorem, natomiast we wszystkich jest autorem korespondującym.

Szczegółowe omówienie poszczególnych pozycji osiągnięcia naukowego:

Pozycja 1.

Kołbuc M, Leßmeier L, Salamon-Słowińska D, Małecka I, Pawlaczyk K, Walkowiak J, Wysocki J, Beck BB, Zaniew M. *Hypomagnesemia is underestimated in children with HNF1B mutations. Pediatr Nephrol. 2020 Oct;35(10):1877-1886. doi: 10.1007/s00467-020-04576-6.*

Praca przedstawia retrospektywną, jednoośrodkową analizę danych klinicznych 14 pacjentów z CAKUT w stadium I-III przewlekłej choroby nerek, z potwierdzoną mutacją w genie *HNF1B*. Celem oceny zaburzenia homeostazy magnezu porównano częstość występowania hipomagnezemi stosując dolną granicę wartości referencyjnej stosowanej w populacji internistycznej (0.7 mmol/l) oraz wartość 2.5 centyla stężenia magnezu uzyskaną w grupie kontrolnej 110 dzieci bez patologii nerkowej. Przy zastosowaniu tej ostatniej częstość występowania hipomagnezemi wzrosła 4-krotnie, co wskazuje na niedoszacowaniu częstości tego zaburzenia przy stosowaniu norm nieuwzględniających zmienności rozwojowej. Jednoczesna ocena frakcyjnego wydalania magnezu, zwiększa swoistość oceny, potwierdzając nerkową utratę magnezu. Dodatkowo w pracy wykazano ujemną korelację pomiędzy stężeniem magnezu w surowicy krwi zarówno w grupie kontrolnej jak i w grupie badanej. Poczynione obserwacje wskazują na konieczność stosowania norm pediatrycznych w ocenie gospodarki magnezowej u dzieci.

Pozycja 2.

Motyka R, Kołbuc M, Wierzchołowski W, Beck BB, Towpik IE, Zaniew M. *Four Cases of Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) Type 5 Associated with Mutations in the Hepatocyte Nuclear Factor 1 Beta (HNF1B) Gene Presenting in a 13-Year-Old Boy and in Adult Men Aged 33, 34, and 35 Years in Poland. Am J Case Rep. 2021 Feb 2;22:e928994. doi: 10.12659/AJCR.928994.*

Artykuł prezentuje 4 przypadki pacjentów z *HNF1B*-MODY w wieku 13, 33, 34 i 35 lat, u których rozpoznanie molekularne zostało postawione z opóźnieniem, pomimo współwystępowania torbieli nerek i cukrzycy. Wcześniejsze potwierdzenie hipomagnezemi i/lub hipermagnezurii byłoby pomocne w diagnostyce różnicowej w kierunku *HNF1B*-MODY wśród pacjentów ze współistniejącą cukrzycą i CAKUT.

Pozycja 3.

Kołbuc M, Bieniaś B, Habbig S, Kołek MF, Szczepańska M, Kiliś-Pstrusińska K, Wasilewska A, Adamczyk P, Motyka R, Tkaczyk M, Sikora P, Beck BB, Zaniew M. *Hyperuricemia Is an Early and Relatively Common Feature in Children with HNF1B Nephropathy but Its Utility as a Predictor of the Disease Is Limited. J Clin Med. 2021 Jul 24;10(15):3265. doi: 10.3390/jcm10153265.*

Pozycja 3 to wieloośrodkowa, retrospektywna analiza danych 108 dzieci (w tym 43 z mutacją genu *HNF1B*) zgromadzonych w Polskim Rejestrze Uwarunkowanych Genetycznie Tubulopatii (POLtube). Stosując pediatryczne wartości referencyjne, wykazano istotnie częstsze występowanie zarówno hiperurykemii jak i hipomagnezemii u pacjentów z mutacją *HNF1B* oraz niższe stężenie magnezu w tej grupie chorych. Potwierdzono też związek pomiędzy mutacją *HNF1B* a hiperurykemią, stwierdzając 3-krotnie częstsze występowanie tego zaburzenia u pacjentów z mutacją. Dodatkowo przeanalizowano przydatność kliniczną oceniania hiperurykemii w przewidywaniu obecności mutacji *HNF1B* u dzieci z CAKUT. Analiza przy użyciu metody regresji logistycznej wykazała niską wartość IG (ang. *information gain*, zysk informacyjny) dla hiperurykemii jako predyktora choroby, w przeciwieństwie do hipomagnezemii i podwyższonego poziomu parathormonu.

Rozprawa doktorska podejmuje ważny temat poszukiwania wiarygodnego narzędzia diagnostycznego mającego wspomóc klinicystów w selekcji pacjentów pediatrycznych z CAKUT do badań molekularnych w kierunku mutacji *HNF1B*. Aktualnie stosowane kryteria diagnostyczne bazują na fenotypie nerkowym i pozanerkowym, wywiadzie rodzinnym oraz na obecności zaburzeń biochemicznych takich jak hipokalemia, hiperurykemia oraz hipomagnezemia. W zakresie tych ostatnich, punkty odcięcia opierają się o normy stosowane dla osób dorosłych, nieuwzględniających zmienności rozwojowej.

Doktorant wykazał, iż wprowadzenie norm pediatrycznych w zakresie stężenia magnezu i kwasu moczowego istotnie zwiększa częstość rozpoznawania hipomagnezemii i hiperurykemii u dzieci z CAKUT, co skutkuje dalszą diagnostyką genetyczną w kierunku mutacji *HNF1B*. Zawarte w rozprawie obserwacje mają duże znaczenie praktyczne, prowadząc do możliwości modyfikacji zaleceń co do konieczności zastosowania norm pediatrycznych w diagnostyce nie tylko pacjentów z obecnością mutacji *HNF1B*, ale także innych schorzeń

przebiegających z nerkową utratą magnezu takich jak rodzinna hipomagnezemia czy zespół Gitelmana.

Wyniki uzyskane w badaniu wieloośrodkowym potwierdziły przydatność kliniczną oznaczania magnezu i kwasu moczowego u pacjentów z podejrzeniem mutacji *HNF1B*. Dodatkowo wykazano, że hipomagnezemia jest bardziej wartościowym markerem predykcyjnym mutacji *HNF1B* niż hiperurykemia. Silnym predyktorem w kontekście przewidywanej mutacji był też podwyższony poziom parathormonu, jednakże, jak sam podkreślił to autor, ze względu na związek nadczynności przytarczyc z upośledzoną funkcją nerek obserwacja ta wymaga dalszych badań.

Praktycznym przykładem przydatności oznaczania magnezu w surowicy krwi i w moczu jest prezentowana w pracy drugiej seria 4 przypadków pacjentów z cukrzycą i torbielami nerek, u których właściwa diagnostyka obejmująca ocenę gospodarki magnezowej umożliwiłaby wcześniejszą diagnostykę molekularną i prawidłowe rozpoznanie choroby.

Do najważniejszych walorów recenzowanej rozprawy zaliczam istotność i aktualność wybranej tematyki oraz wartość praktyczną wynikającą z przedstawionych wniosków. Zaprezentowany w dysertacji problem naukowy, interdyscyplinarny warsztat badawczy i analiza wyników stanowią o wysokiej wartości prezentowanej pracy i świadczą dużej wiedzy teoretycznej oraz o wysokiej umiejętności kandydata w zakresie samodzielnego planowania i prowadzenia badań naukowych.

Z obowiązku recenzenta mam następujące spostrzeżenia i uwagi:

- 1) Wnioski, aczkolwiek zawierają najistotniejsze implikacje wykonanych badań, nie odpowiadają do końca na postawione cele. Podczas gdy głównym celem pracy jest ocena częstości występowania zaburzeń homeostazy magnezu i kwasu moczowego, we wnioskach jest jedynie informacja o niedoszacowaniu w/w częstości z powodu niewłaściwych wartości referencyjnych oraz najczęstszym występowaniu hipomagnezemu. Przy takim sformułowaniu wniosku właściwszym doborem celu badania byłoby porównanie częstości występowania zaburzeń magnezu i kwasu moczowego w oparciu o różne wartości referencyjne.
- 2) Dysertacja zawiera informacje o wkładzie pracy poszczególnych autorów, z wyjątkiem wkładu indywidualnego Doktoranta. Warto byłoby zawrzeć w rozprawie tę informację.

Ze względu na fakt, iż lek. Marcin Kołbuc jest pierwszym autorem w dwóch pracach i autorem korespondującym we wszystkich 3 publikacjach, należy uznać, że udział kandydata w zakresie doboru tematyki, rekrutacji, analizie danych, formułowania celów i wniosków oraz przygotowania artykułów był wiodący.

- 3) Na stronie 27 autor pisze: „zgodnie z oczekiwaniami średnie sMg było wyższe..” podczas gdy powinno być niższe. Niewątpliwie jest to błąd drukarski.

Należy podkreślić, że powyższe uwagi nie umniejszają mojej wysokiej oceny pracy doktorskiej lekarza Marcina Kołbuca.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi oryginalne dokonanie doktoranta i świadczy o bardzo dobrym opanowaniu warsztatu naukowego oczekiwanym od kandydata na stopień doktora nauk medycznych.

Rozprawa spełnia kryteria określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zmianami), w związku z art. 179 ust.1 ustawy w dnia 3 lipca 2018. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2018 r. poz. 1668 z późn. zmianami).

W związku z tym, proszę Wysoką Radę Naukową Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki o dopuszczenie lek. Marcina Kołbuca do dalszych części przewodu doktorskiego.

Ponadto, ze względu na wysokie walory merytoryczne, nowatorstwo oraz bardzo dużą wartość poznawczą i praktyczną proponuję wyróżnienie pracy.

Dr hab. n. med.
Dagmara Borzych-Dużałka
specjalista chorób dziecięcych
NEFROLOG
1306243
D. Borzych