

Jacek Ziaja

Katowice, 12.04.2019

Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej,  
Naczyniowej i Transplantacyjnej  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych w zakresie medycyny lekarki Lidii Lewandowskiej pod tytułem:

"Przydatność wybranych biomarkerów w moczu w rozpoznawaniu ostrego uszkodzenia nerek we wczesnym okresie po zabiegu przeszczepienia wątroby",  
której promotorem jest prof. dr hab. med. Joanna Matuszkiewicz-Rowińska.

Praca powstała w Klinice Nefrologii, Dializoterapii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, kierowanej przez prof. dr. hab. med. Jolantę Małyszko.

#### **Charakterystyka formalna rozprawy**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska ma formę spójnego tematycznie zbioru 2 artykułów opublikowanych w recenzowanych czasopismach medycznych. Tworzą go:

1. Praca oryginalna: Lidia Lewandowska, Joanna Matuszkiewicz-Rowińska, Calpurnia Jayakumar, Urszula Oldakowska-Jedynak, Stephen Looney, Michalina Galas, Małgorzata Dutkiewicz, Marek Krawczyk, Ganesan Ramesh. Netrin-1 and semaphorin 3A predict the development of acute kidney injury in liver transplant patients. PLoS One. 2014; 9: e107898. doi: 10.1371/journal.pone.0107898.
2. Praca przeglądowa: Lidia Lewandowska, Jolanta Małyszko, Joanna Matuszkiewicz-Rowińska. Urinary and serum biomarkers for the prediction of acute kidney injury in patients undergoing liver transplantation. Ann Transplant, 2019; 24: DOI: 10.12659/ AOT.914975.

W obu pracach doktorantka jest ich pierwszym autorem, a promotor - drugim lub ostatnim współautorem.

W załączonych do pracy informacjach o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu każdego z nich promotor pracy potwierdza, że udział doktorantki w pierwszej z prac polegał na zaplanowanie badania, rekrutacji

chorych, pobieraniu materiału do badań, stworzeniu bazy danych, analizie wyników, i przygotowaniu manuskryptu i szacunkowo wynosił 70% całości pracy, zaś w drugiej – na nakreśleniu struktury pracy, zgromadzeniu i analizie piśmiennictwa, oraz przygotowaniu manuskryptu i szacunkowo wynosił 80% całości pracy.

W podpisanych przez wszystkich współautorów oświadczeniach wyrazili oni zgodę na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej lekarki Lidii Lewandowskiej.

Pierwsza praca została opublikowana w czasopiśmie posiadającym 40 punktów według punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) i wskaźnik oddziaływania (impact factor) wynoszący 3,234 punktu, druga – w posiadającym 20 punktów, i wskaźnik oddziaływania wynoszący 1,054 punktu.

Należy podkreślić, że badanie stanowiące podstawę pracy oryginalnej zostało przeprowadzone w kilku jednostkach organizacyjnych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, i we współpracy z badaczami z Georgia Regents University w Stanach Zjednoczonych.

Wspomniane prace otrzymałem w formie oprawionego wydruku, zawierającego również: wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, podsumowanie dorobku naukowego doktorantki, wykaz stosowanych skrótów i oznaczeń, omówienie zagadnień związanych z przydatnością wybranych biomarkerów w moczu w rozpoznawaniu ostrego uszkodzenia nerek we wczesnym okresie po zabiegu przeszczepienia wątroby, omówienie obu publikacji składających się na rozprawę doktorską, streszczenia w języku polskim i angielskim, spis piśmiennictwa, zgodę Komisji Etycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz wspomniane informacje i oświadczenia.

### **Charakterystyka merytoryczna**

U chorych kwalifikowanych do przeszczepienia wątroby, szczególnie w trybie pilnym, obserwuje się szereg zaburzeń w zakresie gospodarki kwasowo-zasadowej i wodno-elektrolitowej. Podczas samej operacji przeszczepienia może dojść u nich do wystąpienia hipowolemii i upośledzenia perfuzji tkanek, które mogą nasilić wspomniane zaburzenia metaboliczne i w konsekwencji doprowadzić do pogorszenia czynności niektórych narządów, w tym nerek. Wspomniane pogorszenie czynności nierzadko dotyczy nerek dotkniętych istniejącą już wcześniej nefropatią, pierwotną lub wtórną do chorób współistniejących, takich jak cukrzyca czy nadciśnienie tętnicze.

Wystąpienie ostrego uszkodzenia nerek po przeszczepieniu wątroby, szczególnie gdy wymaga ono terapii nerkozastępczej, pogarsza rokowanie w zakresie przeżycia biorcy i

przeszczepionej wątroby oraz czynności nerek w okresie późniejszym. W związku z powyższym wczesna identyfikacja chorych, w przypadku których dochodzi do wystąpienia tego powikłania, pozwoliłoby na włączenie postępowania mającego na celu zahamowanie postępu i zmniejszenie nasilenia niewydolności.

W chwili obecnej, zgodnie z klasyfikacją *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* ostre uszkodzenie nerek rozpoznaje się w oparciu o pomiar stężenia kreatyniny lub ilości wydzielanego moczu. Wobec faktu, że stężenie kreatyniny w surowicy uzależnione jest między innymi od stanu odżywienia chorego i jego masy mięśniowej, które mogą być upośledzone u chorych ze schyłkową niewydolnością wątroby poddanych przeszczepieniu, a do jego wzrostu dochodzi późno, gdy uszkodzeniu uległa znaczna część miąższu nerki, przydatność oznaczania tego parametru w rozpoznaniu ostrej niewydolności nerek u chorych przewodzonych i otrzymujących liczne przetoczenia płynów w okresie okołoperacyjnym może być ograniczona. Dodatkowym wyzwaniem jest interferencja z kreatyniną wysokiego stężenia bilirubiny w surowicy, jakie ma miejsce u chorych z marskością wątroby. Powyższe czynniki sprawiają, że rozpoznanie ostrego uszkodzenia nerek w oparciu o pomiar stężenia kreatyniny w surowicy chorych po przeszczepieniu wątroby może być opóźnione i wpływać niekorzystnie na czas wdrożenia właściwego leczenia.

Wobec wspomnianych faktów istnieje konieczność znalezienia czułych i specyficznych biomarkerów oznaczanych w moczu lub surowicy, umożliwiających wczesne rozpoznawanie ostrego uszkodzenia nerek, a także pozwalających na określenie nasilenia tego procesu chorobowego u chorych, u których pomiar stężenia kreatyniny w surowicy nie spełnia tych warunków, jak to ma miejsce po przeszczepieniu wątroby. Temu właśnie zagadnieniu poświęcała swoje badania lekarka Lidia Lewandowska.

Do chwili obecnej w przeprowadzonych badaniach doświadczalnych i klinicznych zidentyfikowano kilka biomarkerów w surowicy i moczu, które potencjalnie mogłyby być przydatne do wczesnego rozpoznania ostrego uszkodzenia nerek. Należą do nich lipokalina 1 związana z żelatynazą neutrofilii (NGAL 1), oznaczana zarówno w moczu, jak i w surowicy, cząsteczka 1 uszkodzenia nerek (KIM-1), cystatyna C, wątrobowy typ białka wiążącego kwasy tłuszczowe (L-FABP) oraz interleukina-18 (IL-18).

W swoich badaniach doktorantka postanowiła określić przydatność pomiaru stężenia w moczu dwóch biomarkerów, jakimi są niskocząsteczkowe białka kontrolujące migrację komórek i regenerację neuronów, netryna-1 i semaforyna-3A, w rozpoznawaniu ostrego uszkodzenia nerek u biorców wątroby we wczesnym okresie po przeszczepieniu.

W pracy oryginalnej, stanowiącej podstawę jej pracy badawczej, doktorantka objęła badaniem 63 chorych z ostrą lub przewlekłą niewydolnością wątroby, poddanych zabiegowi przeszczepienia wątroby pobranej ze zwłok. Od wszystkich chorych pobrała próbki moczu i krwi przed zabiegiem oraz w trzykrotnie w ciągu pierwszej doby po jego zakończeniu, oraz próbki krwi codziennie przez 7 dni po operacji. W moczu doktorantka oznaczała stężenie NGAL, netryny-1 i semaforyny-3A, a w surowicy - stężenie kreatyniny. Wystąpienie ostrej niewydolności nerek rozpoznawała w przypadku wzrostu stężenia kreatyniny w surowicy o  $\geq 50\%$  w stosunku do wartości przedoperacyjnych w ciągu 72 godzin po zakończeniu przeszczepienia. W ocenie czułości i swoistości netryny-1 posłużyła się klasyczną krzywą ROC.

Spośród zakwalifikowanych przez doktorantkę do udziału w badaniu chorych, do ostrej niewydolności nerek doszło u 56% biorców. Chorzy z niewydolnością nerek byli starsi i mieli mniejszą diurezę w pierwszej dobie po zabiegu. Poza tymi parametrami pomiędzy chorymi z i bez ostrej niewydolności nerek nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie płci, BMI, czasu trwania zabiegu i czasu hospitalizacji.

Lekarka Lidia Lewandowska wykazała, że u chorych z ostrą niewydolnością nerek stężenie kreatyniny w surowicy zaczęło wzrastać w 2 dobie po zabiegu, podczas gdy zarówno stężenie netryny-1, jak semaforyny-3A w moczu osiągnęło szczyt dużo wcześniej, bo już po 2 godzinach, przy czym po 6 godzinach ich stężenia nie różniły się istotnie od wartości wyjściowych. Zauważyła ponadto, że chorzy, u których nie doszło do rozwoju ostrej niewydolności nerek mieli znacznie mniejsze i nieistotne statystycznie wzrosty stężenia omawianych biomarkerów. Stężenia netryny-1 (ale nie semaforyny-3A) były względnie wyższe już wyjściowo w grupie chorych z ostrą z niewydolnością nerek.

Doktorantka wykazała, że w jednoczynnikowej analizie regresji logistycznej parametrami związanymi z istotnie większym prawdopodobieństwem wystąpienia ostrej niewydolności nerek po przeszczepieniu wątroby okazały się: wiek, diureza w pierwszej dobie po przeszczepieniu wątroby i wzrost stężenia netryny-1 po 2 godzinach po operacji. W krokowej analizie regresji istotnymi predyktorami rozwoju niewydolności były: BMI i stężenie badanych biomarkerów w 2 godzinie po przeszczepieniu wątroby.

Doktorantka dowiodła, że jednoczesne stwierdzenie wartości powyżej punktów odcięcia dla 2 lub 3 badanych biomarkerów nie poprawia wartości predykcyjnej w przewidywaniu wystąpienia niewydolności nerek, natomiast stwierdzenie stężenia powyżej punktu odcięcia przynajmniej jednego z nich poszerzało pole pod krzywą, z istotnym wzrostem czułości.

We wnioskach doktorantka podkreśla przydatność zarówno stężenia netryny-1, jak i semaforyny-3A w moczu oznaczanych w 2 godzinie po zakończeniu przeszczepienia w przewidywaniu wystąpienia ostrej niewydolności nerek, porównywalną do przydatności uznanego już biomarkera, jakim jest NGAL.

W drugiej pracy, mającej charakter przeglądu i stanowiącej do pewnego stopnia uzupełnienie pracy oryginalnej, w oparciu o 64 publikacje doktorantka przedstawiła aktualny stan wiedzy dotyczący biomarkerów, które pozwoliłyby na przewidywanie wystąpienia ostrej niewydolności nerek u chorych po zabiegu przeszczepienia wątroby. Zwróciła uwagę na trudności, jakie występują podczas badań dotyczących tego zagadnienia, wynikające m. in. z uszkodzenia wielonarządowego, współwystępowania innych chorób, oraz złożoności patogenezy niewydolności nerek.

Zdając sobie sprawę z konieczności prowadzenia dalszych badań w tym zakresie doktorantka sugeruje, że identyfikacja grupy wysokiego ryzyka rozwoju ostrej niewydolności nerek po przeszczepieniu wątroby będzie musiała opierać się na jednoczesnym pomiarze i ocenie większej liczby markerów.

## **Podsumowanie**

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarki Lidii Lewandowskiej spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2016, poz. 882 z późn.zm.).

Dowodzi ona dużej wiedzy doktorantki na temat omawianych zagadnień opartej na wnikliwym przeanalizowaniu dostępnego piśmiennictwa. Lekarka Lidia Lewandowska wykazała się nie tylko umiejętnością zaplanowania i realizacji pracy badawczej oraz analizy uzyskanych wyników, lecz także przygotowaniem prac do publikacji w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Opublikowane prace stanowią jej samodzielny, oryginalny i wartościowy dorobek naukowy.

Należy podkreślić, że ani netryna-1, ani semaforyna-3A nie były do tej pory oznaczane u chorych poddanych operacji przeszczepienia wątroby, jak również dotychczas nie badano wartości predykcyjnej tych markerów w omawianej grupie chorych, i z tej przyczyny można uznać przeprowadzone przez lekarkę Lidię Lewandowską badania jako nowatorskie. Uzyskane przez nią wyniki posiadają nie tylko wartość poznawczą, ale stwarzają również szansę wykorzystania w

praktyce klinicznej, do oceny ryzyka wystąpienia ostrej niewydolności nerek u chorych po przeszczepieniu wątroby.

Wobec faktu, że obydwie prace stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej zostały wcześniej poddane krytycznej ocenie przez recenzentów renomowanych czasopism naukowych, w których się ukazały, a uwagi tych recenzentów musiały zostać uwzględnione w przygotowaniu prac do druku, nie znajduję podstaw do zgłoszenia krytycznych uwag dotyczących opublikowanych prac.

Wobec powyższego mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lekarki Lidii Lewandowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach  
Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej,  
Naczelnej i Transplantacyjnej  
40-047 Katowice, ul. Francuska 20/24  
tel. 032-255 50 52

DR HAB. MED. JACEK ZIĄJA  
SPECJALISTA CHIRURG  
2715066