

Akceptuję
HJW

UNIWERSYTET MEDYCZNY WE WROCŁAWIU

Katedra i Klinika Nefrologii Pediatricznej

ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław, sekretariat-tel.(071) 7364400

e-pocztą: danuta.zwolinska@umw.edu.pl

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Kiliś-Pstrusińska

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I KLINIKA
NEFROLOGII PEDIATRYCZNEJ
ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław
tel. 71 736 44 00, faks: 71 736 44 09

Wrocław, 06. 01.2023 r.

Ocena

rozprawy doktorskiej lek. Agnieszki Turczyn pt.: " Ocena uszkodzenia nerek w nefropatii zaporowej u dzieci "

Rozprawa doktorska lek. Agnieszki Turczyn jest owocem 2 prac oryginalnych, opublikowanych w latach 2021-2022 w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Ich łączna punktacja MNiSW to 210 punktów, a wskaźnik oddziaływania (IF) - 6,598. Obie publikacje, w których Doktorantka jest pierwszym autorem, dotyczą przydatności wybranych wskaźników włóknienia do oceny postępującego uszkodzenia nerek u dzieci z nefropatią zaporową. Prace są tematycznie spójne i wzajemnie się uzupełniają, co uzasadnia ich przyjęcie za podstawę rozprawy doktorskiej.

Należą do nich:

1. Turczyn A., Pańczyk-Tomaszewska M., Krzemień G., Górská E., Demkow U.:
The usefulness of urinary periostin, cytokeratin-18 and endoglin for diagnosing renal fibrosis in children with congenital obstructive nephropathy. JCM, 2021, 10(21): 4899.doi: 10.3390/jcm10214899
2. Turczyn A., Krzemień G., Górská E., Demkow U., Pańczyk-Tomaszewska M.:
Serum and urine periostin and cytokeratin-18 in children with congenital obstructive nephropathy CEJI, 2022, 47 (1), 63-72 doi: 10.5114/ceji.2022.115687

Wrodzone wady układu moczowego (CAKUT-ang. congenital anomalies of kidney and urinary tract) u dzieci stanowią poważny problem kliniczny, gdyż są wiodącą przyczyną rozwoju przewlekłej choroby nerek. Według danych Polskiego Rejestru Dzieci Leczonych Nerkozastępczo stwierdza się je u około 50% dializowanych pacjentów, z czego aż 29% to uropatie utrudniające swobodny spływ moczu do pęcherza moczowego. W zależności od rodzaju i ciężkości wady oraz towarzyszących powikłań, najczęściej infekcyjnych, z różną szybkością dochodzi do uszkodzenia nefronów i dysfunkcji narządu. Postępujące włóknienie mięszu nerek jest procesem złożonym, przebiegającym etapowo; bierze w nim udział szereg czynników, a naturalny przebieg tego zjawiska rokuje niepomyślnie. Proces włóknienia można jednak spowolnić pod warunkiem wczesnego rozpoznania zmian. Nie jest to proste zadanie; dostępne powszechnie metody, zarówno obrazowe jak i laboratoryjne, nie pozwalają na wczesne i precyzyjne określenie stopnia uszkodzenia nerek. Podkreślić trzeba, że kreatynina, najczęściej używana w praktyce jako marker dysfunkcji nerek, jest daleka od ideału. Jej surowicze stężenie waha się w zależności od wieku, płci, masy mięśniowej, stanu nawodnienia, leków i innych czynników, niezależnych od czynności nerek. Szacuje się, że do wzrostu wartości kreatyniny w surowicy dochodzi z dużym opóźnieniem, gdy odsetek uszkodzonych nefronów sięga niemal 50%. Nic więc dziwnego, że wysiłki badaczy skupiają się na poszukiwaniu biomarkera, który pozwoliłby na wczesną identyfikację procesu włóknienia i uszkodzenia nerek, a tym samym na wczesne wdrożenie leczenia nefroprotekcijnego. O ważkości tego zagadnienia, jako problemu społecznego w polskim systemie opieki zdrowotnej, świadczy fakt podjęcia działań nad koordynowaną opieką nefrologiczną dla pacjentów z przewlekłą chorobą nerek. Uwzględniono w nich tzw. ścieżkę pediatryczną, która już na etapie okresu noworodkowego pozwoli na identyfikację i monitorowanie dzieci z wadami nerek, w tym z uropatiami zaporowymi. Uzupelnienie powyższych działań o możliwość wczesnego wykrycia uszkodzenia nefronów byłoby wspinałym zwieńczeniem tego projektu. Nadmienić trzeba, że literatura dotycząca wczesnej diagnostyki włóknienia nerek w nefropatiach zaporowych jest skąpa, oparta głównie na badaniach przeprowadzonych na grupie dorosłych chorych, a w wielu aspektach jej brak.

W tym świetle, z uznaniem należy spojrzeć na wybór tematu rozprawy doktorskiej lek. Agnieszki Turczyn. Wpisuje się on w nurt ważnych, współczesnych

badania w nefrologii, a uzyskane wyniki uzupełniają lukę dotyczącą powyższego zagadnienia. Swoje nowatorskie badania Doktorantka zaplanowała bardzo starannie i równie starannie je zrealizowała.

Autorka obie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej omówiła zbiorczo, co jest jak najbardziej uzasadnione. Wybrane biomarkery są bowiem ściśle ze sobą powiązane w procesie włóknienia nerek, odpowiadając za kolejne jego etapy. Pozwala to na szczegółowy wgląd w patogenezę tego zjawiska. Dodatkowym uzasadnieniem jest wspólna grupa badana oraz grupa kontrolna.

Układ pracy jest typowy dla prac opartych na cyklu publikacji i składa się z wykazu tych prac, spisu skrótów, tabel oraz rycin, streszczenia w języku polskim i angielskim, opisu przedmiotu badań oraz piśmiennictwa. Na końcu pracy załączone są kserokopie artykułów stanowiących cykl publikacji oraz oświadczenia współautorów.

Opis przedmiotu badań rozpoczyna zwięzły wstęp, w którym Doktorantka przedstawiła etiopatogenezę uszkodzenia nerek w przebiegu nefropatii zaporowej oraz podała charakterystykę wybranych biomarkerów: periostyny, cytokeratyny-18 (CK-18), endogliny i transformującego czynnika wzrostu - beta1 (TGF- β 1), uzasadniając przekonująco celowość ich wyboru. W tej części pracy chciałabym wyróżnić opis złożonej przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej inicjujący proces włóknienia. Doktorantka zrobiła to w sposób przejrzysty, z dużą swobodą, świadczącą o doskonałej znajomości tych trudnych zagadnień. Wartością dodaną jest także rycina 1. przedstawiająca graficznie udział poszczególnych biomarkerów w uszkodzeniu nerek w przebiegu nefropatii zaporowej.

W sumie ta część pracy dowodzi dużej wiedzy i bardzo dobrego przygotowania teoretycznego lek. Agnieszki Turczyn do realizacji zaplanowanych zadań.

Założenia badawcze oraz cele zostały przedstawione precyzyjnie. Zamierzeniem Doktorantki była nie tylko ocena przydatności periostyny i cytokeratyny-18 w surowicy i moczu oraz endogliny i TNF β w moczu jako markerów włóknienia nerek w nefropatii zaporowej, ale także odpowiedź na pytania: czy istnieją różnice w wartościach stężeń w/w wskaźników w zależności od miejsca przeszkody

w odpływie moczu i sposobu leczenia ? oraz jakie są powiązania pomiędzy badanymi markerami. Celem Doktorantki była ponadto ocena przydatności „starych” wskaźników takich jak: kreatynina, cystatyna C, GFR oraz ACR do oceny nasilenia uszkodzenia nerek u dzieci z nefropatią zaporową. Godnym podkreślenia jest fakt, że realizując powyższe cele lek. Agnieszka Turczyn nie poprzestała na badaniach porównawczych oraz na jedno- i wieloczynnikowej analizie regresji, ale także przeprowadziła analizę ROC dla każdego wskaźnika, określając jego swoistość i czułość.

Jak widać badania zostały zaplanowane bardzo szeroko. Według mojej wiedzy, jest to pierwsze opracowanie, które tak kompleksowo ujmuje poruszane zagadnienie. Przedstawiony plan działania świadczy o dużej ciekawości i wnikliwości badawczej lek. Agnieszki Turczyn.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, pisemną zgodę opiekunów prawnych dzieci oraz zgodę pacjentów, którzy ukończyli 16 rok życia.

Grupa badana i kontrolna była wspólna w obu pracach, więc zostaną one omówione łącznie. Badania prospektywne przeprowadzono u 81 dzieci w wieku od 6 miesięcy do 18 lat (średnia wieku – 3,92 l.) z nefropatią zaporową na podłożu zwężenia podmiedniczkowego moczowodu (65%), zwężenia przypęcherzowego moczowodu (21%) oraz zastawki cewki tylnej. Zgodnie z celami pracy, na poszczególnych etapach badania dokonano podziału pacjentów na podgrupy w zależności od lokalizacji przeszkody utrudniającej spływ moczu oraz metody leczenia. Grupę odniesienia stanowiło 60 zdrowych dzieci, nie różniących się wiekiem i rozkładem płci.

Materiał badawczy jako całość jest reprezentatywny, choć po podziale na poszczególne podgrupy, liczebność dzieci z zastawką cewki tylnej jest ograniczona, co podkreśliła sama Autorka w sekcji „ Limitation of the study”. Wynika to z epidemiologii tej wady, która jest rzadką anomalią u chłopców.

U wszystkich dzieci wykonano badanie usg jamy brzusznej i oznaczano surowicze stężenia: kreatyniny, cystatyny C, periostyny i CK-18 oraz stężenia w moczu: kreatyniny, albuminy, periostyny, CK-18, endogliny, TGF- β 1. Stężenia wybranych biomarkerów w moczu normalizowano do stężenia kreatyniny. Wyliczono również GFR wg zmodyfikowanego wzoru Schwartza oraz współczynnik albuminowo-kreatyninowy (ACR). W grupie badanej wykonywano ponadto

scyntyografię dynamiczną ($^{99m}\text{Tc-EC}$) oceniając obecność blizn i procentowy udział nerki w oczyszczaniu (DRF), na podstawie których weryfikowano rozpoznanie nefropatii zaporowej.

Zastosowane w pracach metody badawcze są współczesne i wiarygodne. Bardzo dobrze oceniam także wybór metod analizy statystycznej, zostały one właściwie dostosowane do analizowanych zbiorów.

Z uznaniem podkreślam, że wyniki badań przedstawione w 16 tabelach i na 10 rycinach zostały przygotowane bardzo starannie pod względem edytorskim, a przypisane do nich komentarze ułatwiają śledzenie wywodów Doktorantki.

Badania lek. Agnieszki Turczyn przyniosły szereg bardzo ciekawych, poznawczo oryginalnych wyników. Nie sposób je wszystkie dogłębnie omówić. Za najbardziej istotne uważam udowodnienie wysokiej przydatności periostyny w moczu jako wskaźnika postępującego włóknienia w nerkach. Przemawiają za tym nie tylko wzrost jej stężenia w moczu z obecnością blizn w nerkach, zwłaszcza zaawansowanych i umiarkowanych oraz silna ujemna korelacja z obniżonym udziałem w oczyszczaniu, ale przede wszystkim wysokie wartości pola pod krzywą (AUC), zarówno periostyny w moczu jak i periostyny/Cr w moczu. Warto również podkreślić, że pomimo niższej przydatności w rozpoznawaniu niewielkich blizn w nerkach (niższe wartości AUC) - specyficzność tego biomarkera była wysoka - 86%. Obserwacje te wskazują na wiodącą rolę periostyny w procesach włóknienia, co jest zbieżne z obserwacjami poczynionymi na myszach pozbawionych genu dla tego białka. Wydaje się więc, że po potwierdzeniu powyższych wyników na większym materiale, stężenie periostyny w moczu jako wskaźnik wczesnej diagnostyki włóknienia nerek, powinien szybko znaleźć miejsce w praktyce klinicznej. Przemawiają również za tym wyniki badań dotyczące standardowych wskaźników uszkodzenia nerek; które okazały się zdecydowanie mniej przydatne w porównaniu z nowymi, analizowanymi przez Doktorantkę. Ciekawe z klinicznego punktu widzenia było wykazanie, iż lokalizacja przeszkody w odpływie moczu oraz sposób leczenia wad przeszkodowych nie mają istotnego wpływu na zachowanie się badanych biomarkerów. Z kolei wyniki badań korelacyjnych dotyczących wzajemnych zależności badanych wskaźników, przemawiające za wspólnym działaniem w procesie włóknienia nerek, pogłębiają naszą wiedzę na ten temat.

Dyskusja zawiera rzeczową, samodzielną interpretację wyników, prowadzona jest systematycznie z odniesieniem się do poszczególnych etapów rozprawy. Świadczy nie tylko o bardzo dobrej znajomości piśmiennictwa i bogatej wiedzy Doktorantki w przedmiocie badań, ale także o zdolności krytycznego podejścia do uzyskanych rezultatów.

Sformułowane wnioski są zgodne z celami pracy, uwzględniają wszystkie założone cele.

Bogate piśmiennictwo zawierające 114 pozycji jest prawidłowo wykorzystane w omówieniu cyklu publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz w samych publikacjach.

Uwagi: Krytycznych uwag nie mam.

Jedyny niedosyt, który odczuwam to brak uwzględnienia epizodów zakażenia górnego odcinka układu moczowego (ostrego odmiedniczkowego zapalenia nerek) w analizie czynników wpływających na stężenie wybranych biomarkerów. Gdyby założyć, że taka zależność istnieje, to w praktyce ten fakt można by wykorzystać do wcześniejszej oceny uszkodzenia nerek u dzieci z takimi powikłaniami. Zachęcam gorąco Doktorantkę do kontynuacji badań na większym materiale (może badanie wieloośrodkowe) z wykorzystaniem powyższej sugestii.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Agnieszki Turczyn stanowi samodzielny, oryginalny i wartościowy dorobek naukowy. Doktorantka wykazała się dużym zaangażowaniem oraz umiejętnością prowadzenia bardzo ważnych i ciekawych badań naukowych. Udowodniła, że potrafi starannie i wszechstronnie zaplanować projekt badawczy i doskonale go zrealizować. Uzyskane w pracy wyniki wnoszą nowe elementy w rozwój wiedzy na temat diagnostyki wczesnego uszkodzenia nerek w nefropatii zaporowej i być może w najbliższej przyszłości znajdą zastosowanie w praktyce klinicznej.

Uważam, że na tej podstawie można uznać Doktorantkę za dojrzałego pracownika naukowego.

Wniosek końcowy

„Rozprawa doktorska lek. Agnieszki Turczyn 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. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z

art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.)".

W związku z tym mam przyjemność i zaszczyt przedłożyć Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Agnieszki Turczyn do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje również o wyróżnienie rozprawy ze względu na aktualność i walory naukowe podjętego tematu, nowoczesny warsztat pracy oraz dojrzałe rozwiązanie hipotezy badawczej.

Prof. dr hab. n. med. Danuta Zwolińska

