

Akceptuję  
HJW

WYDZIAŁ NAUK MEDYCZNYCH W ZABRZU,  
ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH  
Katedra i Klinika Pediatrii  
ul. 3 Maja 13/15, 41- 800 Zabrze, sekretariat- tel.(032) 3704 283 (fax. 292)  
e-pocztą: pedzab@sum.edu.pl  
**Kierownik Katedry: Prof. dr hab. n. med. Maria Szczepańska**  
**Recenzent: Prof. dr hab. n. med. Maria Szczepańska**

---

Zabrze, 10.01.2023 r.

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. med. Agnieszki Turczyn

### „Ocena uszkodzenia nerek w nefropatii zaporowej u dzieci”

Zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dn. 07.12.2022 roku przedstawioną w piśmie z dnia 07.12.2022 roku o powołaniu mnie na recenzenta wyżej wymienionej rozprawy, mam zaszczyt przedstawić poniższą opinię.

Oceniając przedłożoną mi rozprawę na stopień doktora nauk medycznych, dokonam jej charakterystyki w zakresie:

1. wartości celu badawczego
2. poprawności metodycznej
3. redakcji przedłożonej pracy
4. znaczenia klinicznego i praktycznego wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz.

#### 1. Wartość celu badawczego

Nefropatia zaporowa jako następstwo wrodzonej wady układu moczowego jest konsekwencją istnienia przeszkody w odpływie moczu zlokalizowanej w górnych lub dolnych drogach moczowych. Postępujące uszkodzenie i włóknienie nerek prowadzi do rozwoju przewlekłej choroby nerek (PChN), a także w wielu przypadkach do schyłkowej niewydolności nerek (SNN) już w wieku dziecięcym.

Stosowane aktualnie w praktyce klinicznej wskaźniki uszkodzenia nerek, mimo stałego postępu nauk medycznych, nadal nie pozwalają na wczesne rozpoznanie i ocenę zaawansowania procesu włóknienia nerek. Brak rozpoznania opóźnia odpowiednią interwencję u dzieci zagrożonych postępowaniem włóknienia. Ze względu na niekorzystny przebieg

nefropatii zaporowej poszukuje się nowych markerów, które mogłyby zostać wykorzystane w praktyce klinicznej do oceny postępu włóknienia nerek i tym niezwykle ważnym i interesującym problemem zajęła się Doktorantka.

We wstępie Doktorantka w sposób dokładny opisała etiopatogenezę uszkodzenia nerek w przebiegu wrodzonej nefropatii zaporowej. Scharakteryzowała kolejne etapy rozwoju nefropatii, począwszy od aktywacji apoptozy nabłonka cewek nerkowych z uwzględnieniem roli transformującego czynnika wzrostu  $\beta 1$ , czynnika martwicy nowotworów- $\alpha$  poprzez zmniejszenie ekspresji tzw. „czynników przeżycia” - nabłonkowego czynnika wzrostu, czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego, i śródbłonkowej syntazy tlenu azotu. **Lek. Agnieszka Turczyn** omówiła też rolę lokalnego układu renina angiotensyna, rolę niedokrwienia i niedotlenienia cewek nerkowych, rozwoju stresu oksydacyjnego oraz przewlekłego stanu zapalnego. Podkreśliła, że uszkodzenie nabłonka cewek nerkowych zapoczątkowuje proces przemiany nabłonkowomezenchymalnej tzw. EMT, w którym uszkodzone komórki cewek nerkowych przekształcają się w fibroblasty i miofibroblasty, następuje częściowa lub całkowita reorganizacja cytoszkieletu komórek.

W dalszej części wstępu **lek. Agnieszka Turczyn** przedstawiła zagadnienia dotyczące charakterystyki badanych biomarkerów: periostyny (białka macierzy pozakomórkowej), cytokeratyny-18 (białko cytoszkieletowe), endogliny (przebłonowej glikoproteiny) oraz transformującego czynnika wzrostu- $\beta 1$  (cytokiny). Z tego i dalszych fragmentów Rozprawy wynika niezbicie, że Doktorantka jest bardzo dobrze zaznajomiona z przedmiotem wykonywanych badań, zna i rozumie istotę zaburzeń zachodzących w nefropatii zaporowej.

**Lek. Agnieszka Turczyn** cel swoich badań ujęła w 4 punktach:

- 1) ocena przydatności oznaczania periostyny i cytokeratyny-18 (CK-18) w surowicy oraz periostyny, cytokeratyny-18, endogliny i TGF- $\beta 1$  w moczu, do oceny nasilenia włóknienia nerek u dzieci z nefropatią zaporową
- 2) ocena stężenia badanych biomarkerów w zależności od lokalizacji przeszkody w odpływie moczu i sposobu leczenia nefropatii zaporowej
- 3) ocena wzajemnych zależności pomiędzy badanymi biomarkerami
- 4) ocena przydatności standardowych wskaźników uszkodzenia nerek: kreatyniny i cystatyny C w surowicy oraz GFR i ACR do oceny nasilenia włóknienia nerek u dzieci z nefropatią zaporową.

Należy szczególnie podkreślić, że przeprowadzone przez Doktorantkę badania są pierwszymi, wykonanymi w takim zakresie w dziedzinie nefrologii dziecięcej w Polsce.

Wyniki zostały opublikowane w cyklu 2 prac o łącznym IF: 6,598 (210 pkt MNiSW).

## **2. Poprawność metodyczna**

### **2.1 Materiał i metody**

Badaniem prospektywnym objęto 81 dzieci (58 chłopców i 23 dziewcząt) z nefropatią zaporową leczonych w Katedrze i Klinice Pediatrii i Nefrologii WUM od lipca 2016 do kwietnia 2019 roku. Dzieci były włączane do badania na podstawie kryteriów: wiek od 6 miesięcy do 18 lat, obecność wady zaporowej związanej ze zwężeniem podmiędniczki, przepięcherzowym moczowodem lub z zastawkami cewki tylnej, obecność blizn w scyntygrafii nerek.

Kryteriami wyłączenia były: współistnienie innych wad układu moczowego, z wyjątkiem odpływów pęcherzowo-moczowodowych wtórnych do zastawek cewki tylnej, choroby przewlekłe, w tym przebiegające z włóknieniem, przewlekłym stanem zapalnym i/lub alergią, ostra infekcja (czasowe ograniczenie), zabieg urologiczny/chirurgiczny w ciągu ostatnich 12 miesięcy, zakażenie układu moczowego w ciągu ostatnich 6 miesięcy.

Grupę kontrolną stanowiło 60 zdrowych dzieci nie różniących się istotnie rozkładem płci i wieku. Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej WUM na przeprowadzenie badań.

U wszystkich dzieci oceniono stężenie periostyny, CK-18, kreatyniny i cystatyny C w surowicy oraz stężenie periostyny, CK-18, endogliny, TGF- $\beta$ 1, albuminy i kreatyniny w moczu. Wyliczono wskaźnik ACR, i wskaźnik GFR. U wszystkich dzieci wykonano badanie USG jamy brzusznej. Scyntyografię dynamiczną nerek z użyciem  $^{99m}\text{Tc}$ -etylenodicysteiny ( $^{99m}\text{Tc}$ -EC) wykonano tylko w grupie badanej. W mojej opinii sformułowanie „Nefropatię zaporową rozpoznano na podstawie obecności blizn w scyntygrafii nerek” należałoby zmienić na „Nefropatię zaporową w badanej grupie dzieci potwierdzono na podstawie obecności blizn w scyntygrafii nerek”.

Przeprowadzono adekwatną analizę statystyczną.

### **2.2 Wyniki**

Wyniki zostały przedstawione w sposób bardzo przejrzysty i szczegółowy. Uzyskane dane i porównania wybranych parametrów udokumentowano w 16 dobrze dopracowanych graficznie tabelach oraz 10 rycinach (8 rycin złożonych).

Doktorantka w swojej Rozprawie wykazała, że:

- 1). U 65% badanych dzieci przyczyną nefropatii zaporowej było zwężenie podmiędniczki moczowodu, u 21% zwężenie przepięcherzowe moczowodu, u 14% zastawki cewki tylnej.
- 2). Zaawansowane blizny w miększu nerek rozpoznano u 39,5% dzieci z nefropatią zaporową, umiarkowane u 38,3%, a niewielkie blizny u 22,2% dzieci. Nadciśnienie tętnicze rozpoznano

u 5% dzieci, niewielki wzrost stężenia kreatyniny w surowicy i obniżenie eGFR stwierdzono u 7,4% dzieci w wieku powyżej 2 lat, wzrost stężenia cystatyny C u 18,5 % dzieci i podwyższenie ACR u 18,5% dzieci w grupie badanej.

3). W punkcie włączenia do badania 59% dzieci było leczonych zachowawczo, 24% oczekiwało na zabieg urologiczny a kolejne 17% było po przeprowadzonym zabiegu urologicznym.

4). Wykazano niższe stężenia periostyny w surowicy u dzieci z nefropatią zaporową w porównaniu z grupą kontrolną oraz istotnie wyższe stężenia periostyny w moczu i wskaźnika periostyna/Cr w moczu w porównaniu z grupą kontrolną. Dzieci z umiarkowanymi bliznami w scyntygrafii nerek demonstrowały istotnie wyższe stężenia periostyny w surowicy w porównaniu do dzieci z niewielkimi bliznami a dzieci z zaawansowanymi bliznami istotnie wyższe stężenia periostyny/Cr w moczu w porównaniu do dzieci z niewielkimi bliznami.

5). W grupie badanej wykazano wyższe stężenia CK-18 w moczu w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu CK-18 w surowicy i w moczu w zależności od nasilenia blizn w nerkach.

6). Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu endogliny i TGF- $\beta$ 1 w moczu u dzieci z nefropatią zaporową w porównaniu z grupą kontrolną. Podobnie w badanej grupie nie stwierdzono różnic w zależności od nasilenia blizn w nerkach.

7). W wieloczynnikowej analizie regresji logistycznej wykazano, że obniżenie stężenia periostyny w surowicy było związane z obecnością tylko niewielkich blizn w nerkach. Wzrost stężenia periostyny w moczu był związany z obecnością wszystkich rodzajów blizn w nerkach.

Jednocześnie wykazano wysoką przydatność periostyny w moczu oraz wskaźnika periostyna/Cr w moczu do rozpoznawania zaawansowanych/umiarkowanych blizn w nerkach. Wartości wskaźnika periostyna/Cr  $\geq 0,046$  ng/mg w analizie ROC sugerowały obecność niewielkich blizn w nerkach, podczas gdy wartości  $\geq 0,131$  ng/mg wskazywały na zaawansowane/umiarkowane blizny.

8). W wieloczynnikowej analizie regresji logistycznej potwierdzono wzrost stężenia CK-18 w moczu z obecnością zaawansowanych/umiarkowanych blizn w mięszu nerek.

9). Związek periostyny z włóknieniem nerek potwierdziła również silnie ujemna korelacja stężenia periostyny w moczu z obniżonym udziałem nerki w oczyszczaniu (DRF)  $< 40\%$  w badaniu scyntygraficznym.

10). Analiza ROC wykazała niską przydatność CK-18 w surowicy i moczu oraz TGF- $\beta$ 1 i endogliny w moczu do rozpoznawania zaawansowanych/umiarkowanych blizn w nerkach.

- 11). Niezależnie od miejsca lokalizacji przeszkody w drogach moczowych dzieci z nefropatią zaporową wykazywały wyższe stężenia periostyny oraz wskaźnika periostyna/Cr w moczu w porównaniu z grupą kontrolną.
- 12). Dzieci ze zwężeniem przypęcherzowym moczowodu demonstrowały wyższe stężenia CK-18 w surowicy i CK-18/Cr w moczu w porównaniu z grupą kontrolną, a dzieci z zastawkami cewki tylnej wyższe stężenia CK-18 w moczu w porównaniu z grupą kontrolną.
- 13). Dzieci z nefropatią zaporową, niezależnie od sposobu leczenia wykazywały istotnie wyższe stężenia periostyny oraz wskaźnika periostyna/Cr w moczu w porównaniu z grupą kontrolną. W tym punkcie należałoby rozważyć połączenie grupy dzieci leczonych zachowawczo z dziećmi oczekującymi na zabieg w jedną podgrupę i porównać wyniki z grupą leczoną zabiegowo.
- 14). Wykazano wzajemne korelacje pomiędzy biomarkerami w moczu normalizowanymi do stężenia kreatyniny w moczu: stężenie periostyny korelowało z CK-18, endogliną i TGF- $\beta$ 1, stężenie CK-18 z endogliną i TGF- $\beta$ 1.
- 15). Nie stwierdzono różnic w zakresie standardowych wskaźników uszkodzenia nerek w zależności od nasilenia blizn w scyntygrafii nerek i lokalizacji przeszkody w odpływie moczu.
- 16). Udowodniono natomiast związek obniżonego eGFR z obecnością zaawansowanych/umiarkowanych blizn w scyntygrafii nerek i podwyższonego stężenia cystatyny C z obecnością niewielkich blizn. Analiza ROC wykazała niską przydatność cystatyny C, eGFR i ACR do rozpoznawania blizn w nerkach.

### **3. Redakcja przedłożonej pracy**

Rozprawę rozpoczyna spis treści: str. 7-8; wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej: str. 9; wykaz skrótów: str. 11-13; spis tabel i spis rycin: str. 15-17, streszczenie w języku polskim: str. 19-23; streszczenie w języku angielskim: str. 25-28; następnie typowy układ: wstęp: str. 29-34; założenia i cele pracy: str. 35; uzasadnienie połączenia prac w jeden cykl tematyczny: str. 36; opis grupy pacjentów i metodyka badań: str. 37-39; wyniki: str. 41-63; omówienie wyników w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy: str. 65-75; podsumowanie: str. 76; piśmiennictwo, kopie opublikowanych prac, zgody Komisji Bioetycznej oraz oświadczenia współautorów. Piśmiennictwo zawiera 141 pozycji, w tym 93 od roku 2012, oraz 42 od roku 2000 co potwierdza bardzo dobre przygotowanie bazy literaturowej przez Doktorantkę i przeznaczenie znacznego nakładu pracy do zebrania odpowiedniej literatury.

Praca napisana jest poprawną polszczyzną, dobrze się ją czyta. Skorygowania wymaga w spisie skrótów przesunięcie tekstu „Dializy i Transplantacji (ang. European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association)” pod skrót ERA-EDTA.

#### **4. Wartość kliniczna i praktyczna wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz**

W dyskusji **lek. Agnieszka Turczyn** konfrontuje uzyskane przez siebie wyniki w odniesieniu do danych z piśmiennictwa polskiego i światowego. Doktorantka podkreśla, że badania nad procesem włóknienia nerek nadal nie znalazły konsensusu w sprawie wyboru najlepszego markera, który pozwoliłby na wczesne wykrycie uszkodzenia nerek i ocenę nasilenia włóknienia. Doktorantka wybrała taką grupę biomarkerów, żeby każdy z nich odzwierciedlał poszczególne etapy procesu włóknienia, oraz aby ich potencjał diagnostyczny był możliwy do wykorzystania w praktyce klinicznej. **Lek. Agnieszka Turczyn** w przeprowadzonym badaniu po raz pierwszy wykazała znamienne wyższe stężenia periostyny w moczu u dzieci z nefropatią zaporową w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazany przez Doktorantkę silny związek periostyny z włóknieniem nerek, w mojej opinii jest bardzo ciekawym, nowatorskim i istotnym odkryciem i może stanowić cenną wskazówkę w postępowaniu klinicznym i np. szybszym podjęciu decyzji o leczeniu zabiegowym. Mechanizmy działania periostyny nadal nie są w pełni poznane wobec czego uzyskane w Rozprawie wyniki zachęcają do wykonywania badań prospektywnie – np. w odstępach rocznych - dla oceny przebiegu klinicznego wystąpienia powikłań i wdrożenia lub kontynuacji działań profilaktycznych.

Ciekawą obserwacją z praktycznego punktu widzenia, co Doktorantka podkreśla, jest fakt, że dzieci z zastawkami cewki tylnej, które wykazują gorsze odległe rokowanie w porównaniu do dzieci z innymi wadami zaporowymi, w przeprowadzonych badaniach nie ujawniły różnic w stężeniu periostyny w moczu w porównaniu do dzieci ze zwężeniem podmiędniczkowym i przepęcherzowym moczowodu. Jak Doktorantka podkreśla mogło to wynikać ze zbyt małej liczby pacjentów z zastawkami cewki tylnej w grupie badanej. Zachęcam gorąco **lek. Agnieszkę Turczyn** do kontynuacji badań z rozszerzeniem tej grupy pacjentów co podniosłoby walory przyszłych publikacji.

Niezmiernie ważną obserwacją, było także stwierdzenie w przeprowadzonym badaniu wyższego stężenia CK-18 w moczu u dzieci z nefropatią zaporową w porównaniu z grupą kontrolną. Związek podwyższonego stężenia CK-18 w moczu z obecnością zaawansowanych/umiarkowanych blizn w nerkach stwarzał również optymizm dla zastosowania tego markera w praktyce klinicznej, natomiast rozczarowaniem była jednak niska przydatność CK-18 do ich rozpoznawania. Dalszych prospektywnych badań wymaga wykazany w badaniu wzrost

stężenia CK-18 w moczu u dzieci z zastawkami cewki tylnej i zwężeniem przypęcherzowym moczowodu, który może świadczyć o postępującym procesie włóknienia nerek u tych pacjentów i być wskaźnikiem złego rokowania i sygnałem do intensyfikacji leczenia.

Wyniki badania potwierdziły wspólny udział periostyny, CK-18, endogliny i TGF- $\beta$ 1 w procesie włóknienia nerek. Można więc mieć nadzieję, że te trzy markery łącznie będą przydatne w praktyce klinicznej i niewątpliwie jest to wskazówka dla kolejnych badań klinicznych dających szansę na znalezienie punktu uchwytu dla nowych leków hamujących włóknienie nerek w przebiegu nefropatii zaporowej.

Sformułowane 4 wnioski stanowią w pełni odpowiedź na postawione cele i zadania badawcze.

### WNIOSEK KOŃCOWY

Biorąc pod uwagę nowoczesność, wartość merytoryczną pracy, ważny aspekt kliniczny i praktyczny oraz przeprowadzenie rzeczowej dyskusji oceniam Rozprawę jako spełniającą wymagania stawiane rozprawom na **stopień doktora nauk medycznych** określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku 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.).

Mam więc zaszczyt przedłożyć Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie **lek. Agnieszki Turczyn** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę innowacyjny charakter badań oraz duży wkład pracy Doktorantki włożony w opracowanie rozprawy doktorskiej, mam zaszczyt wnioskować o przyznanie pracy wyróżnienia.

Prof. dr hab. n. med. Maria Szczepańska

635 279  
Prof. dr hab. n. med.  
Maria Szczepańska  
specjalista pediatra, nefrolog  
nefrolog dziecięcy

1.  $\frac{1}{x^2} = x^{-2}$   
 $\frac{d}{dx} x^{-2} = -2x^{-3} = -\frac{2}{x^3}$

2.  $\frac{1}{x^3} = x^{-3}$   
 $\frac{d}{dx} x^{-3} = -3x^{-4} = -\frac{3}{x^4}$

3.  $\frac{1}{x^4} = x^{-4}$   
 $\frac{d}{dx} x^{-4} = -4x^{-5} = -\frac{4}{x^5}$