

Lek. Agnieszka Turczyn

„Ocena uszkodzenia nerek w nefropatii zaporowej u dzieci”

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych
w zakresie medycyny**

Promotor: dr hab. n. med. Małgorzata Pańczyk-Tomaszewska

Katedra i Klinika Pediatrii i Nefrologii

Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022

Streszczenie w języku polskim

Nefropatia zaporowa jest następstwem przeszkody w odpływie moczu zlokalizowanej w górnych lub dolnych drogach moczowych. Prowadzi do postępującego uszkodzenia i włóknienia nerek, a w konsekwencji do rozwoju schyłkowej niewydolności nerek (SNN). Stosowane w praktyce klinicznej standardowe wskaźniki uszkodzenia nerek nie pozwalają na wczesne rozpoznanie procesu włóknienia nerek, ocenę stopnia zaawansowania włóknienia i odpowiednią interwencję u dzieci zagrożonych postępowaniem włóknienia. Poszukuje się markerów, które mogłyby zostać wykorzystane w praktyce klinicznej do oceny włóknienia nerek i postępu choroby.

W przedstawionej pracy analizie poddano periostynę, cytokeratynę-18 (CK-18), endoglinę i transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$ (ang. transforming growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$). Wybrano tę grupę biomarkerów, ponieważ każdy z nich opisuje poszczególne etapy procesu włóknienia nerek, a dostępne badania wskazują na ich potencjał diagnostyczny możliwy do wykorzystania w praktyce klinicznej.

Celem pracy było:

- 1) ocena przydatności periostyny i cytokeratyny-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

Materiał i metody:

Badaniem prospektywnym objęto 81 dzieci (58 chłopców i 23 dziewcząt) z nefropatią zaporową w wieku 3,92 lat (mediana 0,67-9,17), leczonych w Katedrze i Klinice Pediatrii i Nefrologii WUM od lipca 2016 do kwietnia 2019. Dzieci były włączane do badania na podstawie następujących kryteriów: 1) wiek od 6 miesięcy do 18 lat, 2) obecność wady zaporowej związanej ze zwężeniem podmiędniczkowym, przepęcherzowym moczowodu lub z zastawkami cewki tylnej, 3) obecność blizn w scyntygrafii nerek. Kryteriami wyłączenia

z badania były: 1) współistnienie innych wad układu moczowego, z wyjątkiem odpływów pęcherzowo-moczowodowych wtórnych do zastawek cewki tylnej, 2) choroby przewlekłe, w tym przebiegające z włóknieniem, przewlekłym stanem zapalnym i/lub alergią, 3) ostra infekcja (czasowe ograniczenie), 4) zabieg urologiczny/chirurgiczny w ciągu ostatnich 12 miesięcy, 5) zakażenie układu moczowego (ZUM) w ciągu ostatnich 6 miesięcy. Grupę kontrolną stanowiło 60 zdrowych dzieci (39 chłopców i 21 dziewcząt) w wieku 4,08 lat (mediana 1,83-10,08) nie różniących się istotnie rozkładem płci i wieku w porównaniu z grupą badaną.

U wszystkich dzieci oceniono stężenie periostyny, CK-18, kreatyniny (Cr) i cystatyny C w surowicy oraz stężenie periostyny, CK-18, endogliny, TGF- β 1, albuminy i kreatyniny w moczu. Stężenia biomarkerów w moczu normalizowano do stężenia Cr w moczu. Wyliczono wskaźnik ACR w mg/g Cr i wskaźnik GFR w ml/min/1,73m² używając zmodyfikowanego w 2009 r. wzoru Schwartz'a.

U wszystkich dzieci wykonano badanie USG jamy brzusznej. Scyntyografię dynamiczną nerek z użyciem 99mTc-etylenodicysteiny (99mTc-EC) wykonano tylko w grupie badanej. Nefropatię zaporową rozpoznano na podstawie obecności blizn w scyntygrafii nerek. Na potrzeby badania przyjęto trzystopniową klasyfikację blizn nerkowych: 1) zaawansowane, 2) umiarkowane, 3) niewielkie.

Wyniki:

Spośród 81 badanych dzieci u 53 (65%) przyczyną nefropatii zaporowej było zwężenie podmiędniczkowe moczowodu, u 17 (21%) zwężenie przypęcherzowe moczowodu, u 11 (14%) zastawki cewki tylnej. Zaawansowane blizny w mięszu nerek rozpoznano u 32 (39,5%) dzieci z nefropatią zaporową, umiarkowane u 31 (38,3%), niewielkie u 18 (22,2%) dzieci. W momencie włączenia do badania 48 (59%) dzieci było leczonych zachowawczo, 19 (24%) oczekiwało na zabieg urologiczny, 14 (17%) było po zabiegu urologicznym.

Wykazano istotnie niższe stężenia periostyny w surowicy u dzieci z nefropatią zaporową w porównaniu z grupą kontrolną (13873 ± 4247 vs. 16344 ± 7699 ng/ml, $p=0,001$) oraz istotnie wyższe stężenia periostyny w moczu i periostyny/Cr w moczu w porównaniu z grupą kontrolną [odpowiednio: $0,092$ ($0,062$ - $0,160$) ng/ml vs. $0,028$ ($0,013$ - $0,053$) ng/ml, $p<0,001$ i $0,258$ ($0,131$ - $0,508$) ng/mg vs. $0,081$ ($0,024$ - $0,164$) ng/mg, $p<0,001$]. Dzieci z nefropatią zaporową wykazywały istotnie wyższe stężenia CK-18 w moczu w porównaniu z grupą kontrolną ($0,383 \pm 0,152$ vs. $0,320 \pm 0,162$ ng/ml, $p=0,012$).

Dzieci z umiarkowanymi bliznami w scyntygrafii nerek demonstrowały istotnie wyższe stężenia periostyny w surowicy w porównaniu do dzieci z niewielkimi bliznami (14624 ± 4236 vs. 11972 ± 3753 ng/ml, $p=0,049$), a dzieci z zaawansowanymi bliznami istotnie wyższe stężenia periostyny/Cr w moczu w porównaniu do dzieci z niewielkimi bliznami [$0,342$ ($0,161-0,616$) vs. $0,110$ ($0,070-0,250$) ng/mg, $p=0,010$]. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu CK-18 w surowicy i w moczu oraz endogliny i TGF- β 1 w moczu w zależności od nasilenia blizn w nerkach.

W wieloczynnikowej analizie regresji logistycznej wykazano, że obniżenie stężenia periostyny w surowicy było związane z obecnością tylko niewielkich blizn w nerkach ($p=0,023$). Wzrost stężenia periostyny w moczu był związany z obecnością zarówno zaawansowanych/umiarkowanych blizn ($p<0,001$), jak i niewielkich blizn w nerkach ($p=0,005$), a wzrost stężenia CK-18 w moczu z obecnością zaawansowanych/umiarkowanych blizn w nerkach ($p=0,033$). Związek periostyny z włóknieniem nerek potwierdziła również silnie ujemna korelacja periostyny w moczu z obniżonym udziałem nerki w oczyszczaniu (DRF) $<40\%$.

Wykazano wysoką przydatność periostyny w moczu (AUC: 0,849) oraz periostyny/Cr w moczu (AUC: 0,810) do rozpoznawania zaawansowanych/umiarkowanych blizn w nerkach. Pomimo umiarkowanej przydatności periostyny w moczu (AUC: 0,771) i niskiej periostyny/Cr w moczu (AUC: 0,658) do rozpoznawania niewielkich blizn, specyficzność periostyny w moczu do wykrywania niewielkich blizn była wysoka (86%). Wartości periostyny/Cr $\geq 0,046$ ng/mg sugerowały obecność niewielkich blizn w nerkach, podczas gdy wartości $\geq 0,131$ ng/mg wskazywały na zaawansowane/umiarkowane blizny. Analiza ROC wykazała niską przydatność CK-18 w surowicy (AUC: 0,663) i moczu (AUC: 0,611) oraz TGF- β 1 w moczu (AUC: 0,630) do rozpoznawania zaawansowanych/umiarkowanych blizn w nerkach. Pomimo niskiej przydatności endogliny w moczu (AUC: 0,661) do rozpoznawania niewielkich blizn, jej specyficzność była wysoka (94,4%).

Niezależnie od lokalizacji przeszkody w drogach moczowych (zwężenie podmiędniczkowe, przepęcherzowe moczowodu, zastawki cewki tylnej), dzieci z nefropatią zaporową wykazywały wyższe stężenia periostyny w moczu w porównaniu z grupą kontrolną (p odpowiednio: $<0,001$) oraz periostyny/Cr w porównaniu z grupą kontrolną (p odpowiednio: $<0,001$; $<0,001$; $=0,016$). Dzieci ze zwężeniem przepęcherzowym moczowodu demonstrowały wyższe stężenia CK-18 w surowicy i CK-18/Cr w moczu w porównaniu z grupą kontrolną (p odpowiednio: $=0,041$; $=0,024$), a dzieci z zastawkami cewki tylnej wyższe stężenia CK-18 w moczu w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,031$).

Dzieci z nefropatią zaporową, niezależnie od sposobu leczenia (zachowawcze, przed zabiegiem urologicznym, po zabiegu), wykazywały istotnie wyższe stężenia periostyny w moczu w porównaniu z grupą kontrolną (p odpowiednio: $<0,001$) oraz istotnie wyższe stężenia periostyny/Cr w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio: $<0,001$; $<0,001$; $=0,008$).

Wykazano wzajemne korelacje pomiędzy biomarkerami w moczu normalizowanymi do stężenia kreatyniny w moczu: periostyna korelowała z CK-18, endogliną i TGF- β 1 (odpowiednio: $r=0,54$; $r=0,53$; $r=0,39$, $p<0,001$), CK-18 z endogliną i TGF- β 1 (odpowiednio: $r=0,73$; $r=0,71$, $p<0,001$), endoglina z TGF- β 1 ($r=0,72$, $p<0,001$).

Nadciśnienie tętnicze rozpoznano u 5% dzieci, niewielki wzrost stężenia kreatyniny w surowicy i obniżenie GFR 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 z nefropatią zaporową demonstrowały istotnie wyższe stężenia cystatyny C, istotnie wyższe ACR i istotnie niższe GFR w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie standardowych wskaźników uszkodzenia nerek w zależności od nasilenia blizn w scyntygrafii nerek.

Udowodniono związek obniżonego GFR z obecnością zaawansowanych/umiarkowanych blizn w scyntygrafii nerek ($p<0,001$) i podwyższonego stężenia cystatyny C z obecnością niewielkich blizn ($p=0,023$). Analiza ROC wykazała niską przydatność cystatyny C (AUC: 0,624), GFR (AUC: 0,678) i ACR (AUC: 0,647) do rozpoznawania blizn w nerkach.

Wykazano niższe wartości GFR u dzieci z zastawkami cewki tylnej w porównaniu do dzieci ze zwężeniem przepęcherzowym moczowodu ($96,51 \pm 16,56$ vs. $115,90 \pm 23,05$ ml/min/1,73m², $p=0,035$). Nie stwierdzono różnic w stężeniu cystatyny C oraz w GFR i ACR w zależności od lokalizacji przeszkody w odpływie moczu.

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

- 1) Spośród czterech badanych biomarkerów, periostyna w moczu wydaje się być najbardziej obiecującym markerem oceny postępującego procesu włóknienia nerek i w przyszłości może znaleźć zastosowanie w pracy klinicznej. Cytokeratyna-18, endoglina i TGF- β 1 wykazują niższą przydatność w ocenie nasilenia włóknienia, jednak ich znaczenie w procesie włóknienia wymaga dalszych badań.
- 2) Lokalizacja przeszkody w odpływie moczu i sposób leczenia wady zaporowej mają niewielki wpływ na stężenia badanych biomarkerów.

- 3) Wzajemne korelacje biomarkerów w moczu mogą sugerować ich wspólny udział w procesie włóknienia nerek.
- 4) Nowe markery włóknienia okazały się bardziej przydatne od standardowych wskaźników uszkodzenia nerek do oceny nasilenia włóknienia nerek u dzieci z nefropatią zaporową.