Pomorski Uniwersytet Medyczny
Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Prof. dr hab. n. med. Leszek Domański
Al. Powstańców Wielkopolskich 72,
70-111 Szczecin
e-mail: domanle@pum.edu.pl
Tel./fax (91)466-11-96

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Justyny Wajdy zatytułowanej:

„Możliwości wykorzystania nowych biomarkerów ostrego uszkodzenia nerek we wczesnej fazie przebiegu ostrego zapalenia trzustki"

Ostre uszkodzenie nerek (AKI) występuje u około 5% ogólnej populacji chorych hospitalizowanych i jego częstość wyraźnie wzrasta wśród pacjentów oddziałów intensywnej terapii. Największe zagrożenie AKI obserwuje się w grupie chorych poddanych zabiegom kardiochirurgicznym, w której do 50% pacjentów rozwija cechy uszkodzenia nerek. Wiemy, że zespół ostrego uszkodzenia nerek jest niezależnym czynnikiem pogarszającym rokowanie tych pacjentów, a śmiertelność przy jego współistnieniu wg wielu autorów dochodzi do 30%. Markerami wczesnego wykrywania zaburzonej czynności nerek są dalej, zwyczajowo przyjęte końcowe produkty przemiany związków azotowych. Należą do nich azot pochodzący z mocznika we krwi (BUN) oraz kreatynina w surowicy. Przydatność stężenia kreatyniny jako obiektywnego parametru jest dalece ograniczona i jak powszechnie wiadomo zależy ona od wielu czynników w tym od stopnia nawodnienia, diety, masy ciała, masy mięśniowej, wieku, płci, stosowanych leków. Ponadto w ostrym uszkodzeniu nerek stężenie kreatyniny w surowicy zmienia się z wyraźnym opóźnieniem w stosunku do spadku filtracji kłębuszkowej. Mimo tych ograniczeń dalej ocena filtracji kłębuszkowej (GFR) jest podstawowym, szeroko stosowanym wskaźnikiem przewlekłego uszkodzenia czynności nerek. Wśród czynników ryzyka rozwoju AKI poza chorobami nerek najczęściej wymieniane są: wstrząs, rozległe zabiegi chirurgiczne na naczyniach głównych i sercu, niewydolność krążenia, sepsa, toksyczne uszkodzenie nerek czy stosowanie leków i związków zaburzających hemodynamikę kłębuszka nerkowego i cewek. Również badane w dysertacji ostre zapalenie trzustki, a szczególnie jej ciężki przebieg kliniczny wpisuje się na listę jednostek chorobowych wysokiego ryzyka ostrego uszkodzenia nerek.

Główną rolę w zapobieganiu wystąpieniu AKI odgrywają wczesne rozpoznanie, ocena intensywności przebiegu i włączenie odpowiedniego leczenia ograniczającego progresję uszkodzenia nerek. Z tego względu w ostatnich latach intensywnie poszukuje się laboratoryjnych markerów, które mogą mieć

Pomorski Uniwersytet Medyczny
Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Prof. dr hab. n. med. Leszek Domański
Al. Powstańców Wielkopolskich 72,
70-111 Szczecin
e-mail: domanle@pum.edu.pl
Tel./fax (91)466-11-96

znaczenie prognostyczne dla rozwoju ostrego uszkodzenia nerek. Znalezienie idealnego wskaźnika nie jest łatwe, gdyż powinien on spełniać szereg warunków, w tym wykazywać wysoką specyficzność narządową, także czułość, korelować z histopatologicznym obrazem bioptatów nerek i być prosty w oznaczaniu. Na obszernej już liście znajduje się kilka biomarkerów, które rokują obecnie i dają nadzieję na zastosowanie praktyczne. Należą do nich: cystatyna C, lipokalina neutrofilowa związana z żelatynazą neutrofilów (NGAL) oznaczane we krwi i w moczu oraz badane w moczu: cząsteczka-1 uszkodzenia nerek (KIM-1), interleukina 18 (IL-18), białko wiążące kwasy tłuszczowe występujące w wątrobie (L-FABP) czy beta-trace-protein (BTP) nazywane również syntazą prostaglandyny D2 typu lipokaliny (L-PGDS).
Niezmiernie cieszy więc fakt, że doktorantka w swojej dysertacji próbuje wyłonić optymalny panel diagnostyczny wskaźników umożliwiających wczesne prognozowanie ostrego uszkodzenia nerek u chorych z ostrym zapaleniem trzustki o ciężkim przebiegu we wczesnej fazie rozwoju schorzenia.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska oparta jest o monotematyczny cykl trzech publikacji, w tym dwóch prac oryginalnych oraz jednej pracy poglądowej, opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych indeksowanych w bazie PubMed oraz znajdujących się na liście Journal Citation Reports. Łączna wartość wskaźnika Impact Factor (IF) dla cyklu prac wynosi 15,559, zaś łączna liczba punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) wynosi 420. Badanie finansowano w ramach realizacji projektu badań Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum nr N41/DBS/000045. Należy podkreślić, że w każdej z prac doktorantka jest pierwszym autorem. W udostępnionej monografii załączono odpowiednie oświadczenia współautorów artykułów, w których wyrażono zgodę na przedłożenie publikacji jako rozprawy doktorskiej w formie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych. W oświadczeniach wskazano również na indywidualny wkład w pracę lek. Justyny Wajdy, polegający na współudziale w opracowaniu pomysłu i koncepcji pracy, opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu manuskryptu i jego edycji oraz przygotowaniu piśmiennictwa.

Pomorski Uniwersytet Medyczny
Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Prof. dr hab. n. med. Leszek Domański
Al. Powstańców Wielkopolskich 72,
70-111 Szczecin
e-mail: domanle@pum.edu.pl
Tel./fax (91)466-11-96

W skład cyklu włączono następujące publikacje:

1. **Wajda J.**, Dumnicka P., Maraj M., Ceranowicz P., Kuźniewski M., Kuśnierz-Cabala B.: Potential prognostic markers of acute kidney injury in the early phase of acute pancreatitis. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019; 20, 3714; (IF = 4,183; MNiSW = 140 punktów);
2. **Wajda J.**, Dumnicka P., Sporek M., Maziarz B., Kolber W., Ząbek-Adamska A., Ceranowicz P., Kuźniewski M., Kuśnierz-Cabala, B.: Does beta-trace protein (BTP) outperform cystatin C as a diagnostic marker of acute kidney injury complicating the early phase of acute pancreatitis? *Journal of Clinical Medicine.* 2020; 9, 205; (IF = 5,688; MNiSW = 140 punktów);
3. **Wajda J.**, Dumnicka P., Kolber W., Sporek M., Maziarz B., Ceranowicz P., Kuźniewski M., Kuśnierz-Cabala B.: The marker of tubular injury, kidney injury molecule-1 (KIM-1), in acute kidney injury complicating acute pancreatitis: A preliminary study. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9, 1463; (IF = 5,688; MNiSW = 140 punktów).

Publikacja pierwsza jest pracą poglądową, która szeroko omawia problematykę ostrego zapalenia trzustki wprowadzając czytelnika w zagadnienia z zakresu epidemiologii, etiologii i diagnostyki, a także powikłań ze szczególnym odniesieniem do ostrego uszkodzenia nerek. Stanowi ona znakomity wstęp i wprowadzenie w arkana tematyki ujętej w pozostałych dwóch pracach oryginalnych.
Jednym z celów badania jaki postawiła sobie doktorantka była ocena użyteczności diagnostycznej BTP w surowicy we wczesnej fazie rozwoju ostrego zapalenia trzustki (pierwsze 48 godzin trwania choroby) do prognozowania ostrego uszkodzenia nerek w porównaniu z innymi markerami uszkodzenia nerek (stężeniami mocznika, kreatyniny, cystatyny C, uromoduliny i NGAL w surowicy oraz stężeniami NGAL w moczu), markerami stanu zapalnego (białkiem C-reaktywnym – CRP, liczbą leukocytów i neutrofili) oraz markerami dysfunkcji śródbłonka (angiopoetyną-2, rozpuszczalną fms-podobną kinazą tyrozynową-1 – sFlt-1). Innym celem ujętym w odrębnej publikacji była ocena znaczenia pomiarów stężenia KIM-1 w moczu w prognozowaniu wczesnego rozwoju ostrego

Pomorski Uniwersytet Medyczny
Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Prof. dr hab. n. med. Leszek Domański
Al. Powstańców Wielkopolskich 72,
70-111 Szczecin
e-mail: domanle@pum.edu.pl
Tel./fax (91)466-11-96

uszkodzenia nerek oraz analiza związku pomiędzy stężeniami KIM-1 w moczu a innymi markerami uszkodzenia nerek (L-FABP w moczu, kreatyniną i mocznikiem w surowicy), markerami stanu zapalnego (t.j. CRP, prokalcytonina, rozpuszczalny receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu – uPAR, leukocyty, neutrofile) i sFlt-1 w ciągu pierwszych 72 godzin rozwoju ostrego zapalenia trzustki.

Tak przedstawiona praca doktorska stanowi dla recenzenta nie tylko ułatwienie właściwej oceny, ale jej studiowanie jest też ogromną przyjemnością. Dysertacja w formie publikacji świadczy o dojrzałości naukowej doktorantki i automatycznie staje się laurką dla promotora i promotora pomocniczego. Publikacja w czasopismach indeksowanych o wysokim sumarycznym IF za prace będące składowymi dysertacji z urzędu wskazuje, że dysertacja ta jest wysokiej miary i zasługuje na wyróżnienie suma cum laude o co wnoszę do Rady Naukowej już na wstępie recenzji, a postaram się udowodnić zasadność wniosku o wyróżnienie w dalszej części wywodu.

Do badania zakwalifikowano 73 pacjentów z rozpoznanym OZT, w tym w *jednej publikacji* grupę badaną stanowiło 73 chorych (46 osób za Szpitala w Suchej Beskidzkiej i 27 pacjentów ze szpitala w Wadowicach), natomiast w *kolejnej* przedstawiono wyniki pochodzące od 69 chorych zakwalifikowanych do badania w Szpitalu w Wadowicach. Nie jest to duża grupa badawcza, ale zdecydowanie wystarczająca na potrzeby założeń dysertacji. Należy podkreślić, że na potrzeby badania doktorantka ustaliła również protokół, który uzyskał akceptację Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego (nr 1072.6120.216.2017 z dnia 30 listopada 2017 roku) pozwalającą na wykonanie dodatkowych oznaczeń laboratoryjnych w materiale zebranym wcześniej i przechowywanym w temp. -80°C. Rekrutacja pacjentów odbyła się na podstawie pozytywnych opinii wydanych w ramach wcześniejszych projektów badawczych t.j. Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego (nr KBET/247/B/2013 z dnia 28 listopada 2013 roku) oraz Komisji Bioetycznej w Bielsku-Białej (nr 2014/02/06/1 z dnia 6 lutego 2014).

Zgodnie z wyznaczonym protokołem badania, próbki moczu oraz krwi były pobierane w okresie pierwszych 24, 48 i 72 godzin trwania OZT. U wszystkich pacjentów wykonywano rutynowe badania

Pomorski Uniwersytet Medyczny
Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Prof. dr hab. n. med. Leszek Domański
Al. Powstańców Wielkopolskich 72,
70-111 Szczecin
e-mail: domanle@pum.edu.pl
Tel./fax (91)466-11-96

laboratoryjne, a pozostały po ich wykonaniu materiał (surowica, mocz) porcjowano i przechowywano w temperaturze -80°C do czasu przeprowadzenia planowanych pomiarów. Tak przygotowane metodycznie badanie wskazuje, a wręcz daje gwarancję, że uzyskane wyniki i ich interpretacja spełnią oczekiwania badawcze. Doktorantka świadoma jest również ograniczeń przedstawianej pracy badawczej i wskazuje na stosunkowo niewielką liczbę chorych biorących udział w badaniu spełniających kryteria zapalenia trzustki o ciężkim przebiegu z ostrym uszkodzeniem nerek. Niemniej jednak znakomicie znajduje się w interpretacji uzyskanych wyników.

Doktorantka wskazuje, że zarówno BTP, jak i cystatyna C wykazują podobną wartość diagnostyczną dla prognozowania ostrego uszkodzenia nerek u chorych z ostrym zapaleniem trzustki. Podkreśla jednocześnie, że badanie nie wykazało wyższej użyteczności pomiarów stężenia BTP nad stosunkowo szeroko dostępną w laboratoriach cystatyną C i nie powinno być rekomendowane wdrażanie pojedynczych oznaczeń BTP w prognozowaniu ostrego uszkodzenia nerek u pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki. Uwzględniając zalety oraz ograniczenia płynące z charakterystyki poszczególnych markerów, doktorantka wysuwa również sugestię połączenia kilku z nich np. cystatyny C i/lub BTP z NGAL dla bardziej efektywnej diagnostyki ostrego uszkodzenia nerek w przebiegu ostrego zapalenia trzustki. Istotnym spostrzeżeniem doktorantki był również brak istotnych zależności pomiędzy stężeniem BTP, markerami stanu zapalnego i ciężkością ostrego zapalenia trzustki. Doktorantka zaznacza również widoczne związki BTP ze wskaźnikami uszkodzenia śródbłonka (angiopoetyną-2, rozpuszczalną fms-podobną kinazą tyrozynową-1 – sFlt-1), których stężenie wzrasta w konsekwencji zmian patofizjologicznych związanych z badanymi schorzeniami.

Kontynuując badania nad wskazanymi markerami, Doktorantka publikuje wyniki w swojej drugiej pracy oryginalnej, w której nie potwierdza z kolei użyteczności badania stężenia KIM-1 w moczu w prognozowaniu ostrego uszkodzenia nerek. Obserwuje jedynie jego korelację z markerami stanu zapalnego. Jest prawdopodobne, że w badaniu przeprowadzonym przez autorkę, stosunkowo rzadkie pomiary KIM-1 w moczu (raz na dobę) rozpoczynające się po około kilkunastu godzinach od wystąpienia objawów OZT nie dały możliwości zaobserwowania istotnych dla przewidywania AKI

Pomorski Uniwersytet Medyczny
Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Prof. dr hab. n. med. Leszek Domański
Al. Powstańców Wielkopolskich 72,
70-111 Szczecin
e-mail: domanle@pum.edu.pl
Tel./fax (91)466-11-96

wczesnych zmian tego markera. Analizując dynamikę zmian wszystkich oznaczonych markerów Doktorantka stwierdza, że chociaż żaden z badanych markerów nie jest idealny dla oceny ostrego uszkodzenia nerek, to bliski oczekiwaniom dobrego wskaźnika uszkodzenia nerek byłaby ocena stężenia NGAL w surowicy i moczu oraz dla cystatyny C i BTP w surowicy. Godnym podkreślenia jest sposób w jaki doktorantka potrafi krytycznie odnieść się do uzyskanych wyników. Świadczy to o dojrzałości naukowej doktorantki i niewątpliwie dobrej ręce i uważnym oku Promotora.

Podsumowując przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska oparta o monotematyczny cykl trzech publikacji, w tym dwóch prac oryginalnych oraz jednej pracy poglądowej, stanowiąca doniesienie oceniające użyteczność stężenia BTP w surowicy i KIM-1 w moczu w prognozowaniu wystąpienia ostrego uszkodzenia nerek u chorych z ostrym zapaleniem trzustki spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawie doktorskiej. Poza aspektem naukowym ma istotne znaczenie praktyczne a jej walory sprawiają, że mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Naukowej o dopuszczenie lek. Justyny Wajdy do dalszych etapów obrony pracy doktorskiej. Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoką jakość prezentowanych badań i formę ich przedstawienia wnioskuje o jej wyróżnienie suma cum laude.

Leszek Domański