



24.02. 2014

Pen Drobos Nudobos
[Signature]

Dziekanat
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego
wpłynęło dn. 2014 LUT. 24
podpis [Signature] l.dz. 289

**II Klinika Nefrologii
Uniwersytetu Medycznego
w Białymstoku**

Białystok, 5.02. 2014

Recenzja pracy doktorskiej lek. Piotra Edyko

**„Przydatność oznaczenia wybranych biomarkerów w prognozowaniu i diagnostyce
ostrej niewydolności przeszczepionej nerki”**

Dotychczasowe definicje ostrego uszkodzenia nerek (acute kidney injury) opierają się o wzrost stężenia kreatyniny w surowicy, a nie o spadek GFR. Z badań wiadomo, że wzrost kreatyniny pojawia się późno i ulec musi uszkodzeniu co najmniej połowa nefronów, aby znalazło to odbicie we wzroście stężenia kreatyniny. Dodatkowo, jak wynika z krzywej związku kreatyniny z GFR, duże spadki GFR, mogą być związane z niewielkim wzrostem stężenia kreatyniny w surowicy, które często umyka w codziennej praktyce lekarskiej. Dlatego też poszukuje się wczesnych markerów uszkodzenia nerek w celu identyfikacji tych pacjentów. Dotyczy to uszkodzenia wywołanego kontrastem, uszkodzenia nerek po leczeniu cytostatykami, po transplantacji nerek oraz dużych zabiegach, w tym kardiochirurgicznych. Problem dotyczy więc dużej grupy pacjentów, u których istnieje prawdopodobieństwo wystąpienia ostrej niewydolności nerek. Ważne wydają się badania doświadczalne wykonane na zwierzętach, wykazujące, że ostra niewydolność nerek może być odwracalna, jeśli leczenie będzie podjęte w ciągu pierwszych godzin od jej pojawienia się. Potwierdzają to badania kliniczne u ludzi. Dlatego też rozpoznanie uszkodzenia nerek po zadziałaniu czynnika szkodliwego powinno być ujawnione jak najwcześniej, jak to możliwe, aby wdrożyć odpowiednie postępowanie terapeutyczne pozwalające na uniknięcie lub przynajmniej zmniejszenie dalszych powikłań. Wczesne rozpoznanie umożliwi czasowe wprowadzenie metod leczenia uszkodzenia nerek i zapobiegania progresji- jednakże jak wynika z badań doświadczalnych i u ludzi „okno możliwości terapeutycznych” jest wąskie.

wynika z badań doświadczalnych i u ludzi „okno możliwości terapeutycznych” jest wąskie. Kreatynina nie jest idealnym markerem filtracji kłębuszkowej. Ponadto ograniczenia oceny GFR na podstawie stężenia kreatyniny wynikają z metodyki pomiaru, różnej sekrecji cewkowej, a także z braku zależności liniowej między wzrostem stężenia kreatyniny w surowicy a spadkiem GFR. Znaczne zmniejszenie GFR może występować jako odzwierciedlenie wzrostu stężenia kreatyniny, ale dopiero przy 50-procentowej utracie funkcji nerek. Ponadto kreatynina nie jest idealnym biomarkerem AKI z powodu jej niezdolności do rozpoznania wczesnej fazy ostrej niewydolności nerek, a także niemożności różnicowania przyczyny wystąpienia AKI. Tempo wzrostu stężenia kreatyniny w surowicy po rozpoczęciu AKI jest bardzo powolne. Obecnie trwają intensywne prace nad znalezieniem biomarkera lub kilku biomarkerów wczesnego uszkodzenia nerek. Oczekuje się, że biomarkery umożliwią również ocenę stopnia uszkodzenia komórek nabłonka kanalików nerkowych, pozwolą odróżnić AKI od przednerkowej ostrej martwicy kanalików, pomogą zapobiec powikłaniom, a także zmniejszyć śmiertelność. Zabieg przeszczepienia i uzyskanie zadowalającej funkcji przeszczepu zależy od wielu czynników. Ze względu na ograniczony czas postępowania klinicznego u chorych poddanych transplantacji poszukuje się biomarkerów będących specyficznym i czułym wskaźnikiem rozróżniającym ostre odrzucanie przeszczepu i opóźnioną funkcję graftu. Obecnie największym obiektem zainteresowania jest NGAL białko z rodziny lipokalin. Aż do niedawna, interesowało ono biologów, ale wraz z odkryciem faktu, iż NGAL wiąże się z cząsteczkami transportu żelaza-sideroformami, i ten proces jest niezwykle istotny w różnych patologiach od infekcji bakteryjnej aż do uszkodzenia nerek. Ze względu na niewielką masę cząsteczkową (25kDa) oraz oporność na degradację, NGAL jest wydalany z moczem. NGAL akumuluje się w cewkach nerkowych, krwi oraz moczu w wyniku toksycznego lub niedokrwienego uszkodzenia nerek. Biomarkery obecnie oceniane w AKI to: KIM-1 (mocz), L-FABP (mocz), IL-18 (mocz), cystatyna C (osocze, mocz), albumina (mocz), NAG (mocz), GST α i π (mocz), GGT (mocz), β_2 -mikroglobulina (mocz). Ze względu na złożoność AKI prawdopodobnie pojedynczy marker będzie niewystarczającym wskaźnikiem diagnostycznym. W związku z tym niezbędne będzie opracowanie całego panelu markerów służących do pełnej diagnostyki AKI, natomiast na markery różnicujące przyczyny i charakter odrzucania, opóźnionej funkcji graftu zapewne należy jeszcze poczekać, więc biopsja nerki pozostanie jeszcze przez wiele lat złotym standardem.

W obszernym i ciekawym wstępie wstępie doktorant przedstawił epidemiologię i symptomatologię przewlekłej choroby nerek, metody leczenia nerkozastępczego, by następnie

skupić się omówieniu problemu opóźnionej funkcji greftu, czynników wpływających na wyniki transplantacji, mechanizm ostrego uszkodzenia nerki przeszczepionej oraz biomarkery ostrego uszkodzenia nerek w kontekście ich przydatności w transplatalogii.

Ambitnym celem postawionym przez doktoranta była ocena przydatności markerów ostrego uszkodzenia nerek (NGAL, IL-18, cystatyna C, CRP, β 2-mikroglobuliny) w dawców i biorców nerki jako czynników prognostycznych wystąpienia opóźnionej funkcji greftu.

Badaniami objęto 24 biorców, 11 dawców oraz 10 zdrowych ochotników stanowiących grupę porównawczą. Charakterystykę dawców i biorców przedstawił szczegółowo doktorant w tabeli 4 i 5, odpowiednio. Opóźnioną funkcję greftu stwierdzono u 7 biorców. Stężenie NGAL oraz IL-18 w surowicy i w moczu oznaczano przy pomocy dostępnych komercyjnie zestawów metodą ELISA, zaś stężenie cystatyny C, CRP, β 2-mikroglobuliny oznaczano przy pomocy odczynników firmy Roche w laboratorium firmy Synevo. Dodatkowo, porównano uzyskane wyniki u biorców bez opóźnionej funkcji greftu z opóźnioną funkcją greftu. Wyniki badań Doktorant przedstawił bardzo przejrzystie i drobiazgowo zarówno w formie 3 tabel jak i 43 rycin, dodatkowo także w formie opisowej, co znacznie ułatwia czytanie pracy. Doktorant wykazał, iż stężenie IL-18, NGAL i β 2-mikroglobuliny istotnie podwyższone przed transplantacją, obniżyły się znamienne po zabiegu transplantacji nerki, w przypadku IL-18 osiągając wartości obserwowane u osób zdrowych jak i w grupie dawców. W przypadku osób z DGF, stężenie IL-18 było istotnie wyższe niż u osób, u których nerka podjęła funkcję bezpośrednio po wszczepieniu. W przypadku innych biomarkerów jak cystatyna C, β 2-mikroglobuliny, NGAL nie wykazano istotnych różnic pomiędzy pacjentami z DGF a IGF czyli natychmiastową funkcją greftu. Co ciekawe, stężenie kreatyniny oraz cystatyny C w surowicy biorców po transplantacji były istotnie wyższe niż w grupie dawców. W moczu pacjenci z DGF mieli niższe stężenie kreatyniny niż grupa odniesienia, podczas gdy stężenie cystatyny C było istotnie wyższe w obu grupach chorych po transplatnacji w porównaniu do grupy odniesienia, podobnie jak innych badanych biomarkerów. W dyskusji doktorant w oparciu o najnowsze piśmiennictwo starał się wytłumaczyć otrzymane wyniki z porównać je z danymi literaturowymi. Nie było to łatwe zadanie, gdyż w tym szczególnym zakresie, jakim jest ocena przydatności biomarkerów w prognozowaniu wystąpienia DGF, piśmiennictwo jest wyjątkowo skąpe, a dane często rozbieżne, co jak słusznie podkreślił doktorant wynikać może z różnej liczebności grup, metodyki badań i szerokiego zakresu wartości badanych biomarkerów (wynikających z różnej metodologii oznaczeń głównie). Najciekawszym biomarkerem wydaje się być IL-18, ale ponieważ nie jest ona rutynowo oznaczana, to droga do wprowadzenia jej do codziennje

praktyki jest długa. Bardziej przydatne może być oznaczanie cystatyny C w moczu 9 (w surowicy jest ona markerem filtraży kłębuszkowej, zaś w moczu markerem uszkodzenia nerek), gdyż jej pojawienie się świadczy o uszkodzeniu nerek. Pracę kończą 4 wnioski, streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Praca jest napisana poprawnym, zrozumiałym i precyzyjnym językiem. Piśmiennictwo obejmuje 124 pozycje, opublikowane do 2013 roku, które są prawidłowo cytowane w tekście.

Przy przygotowaniu pracy do druku w czasopiśmie indeksowanym w Current Contents (np Transplantation Proceedings) można przemyśleć o przeliczeniu stężeń badanych markerów w moczu na stężenie kreatyniny, i wówczas porównanie pacjentów z DGF i IGF. Warto też przemyśleć uwzględnienie diurezy w relacji do stężenia badanych biomarkerów. Można też zwrócić uwagę czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem biomarkerów u dawcy i funkcją nerek przy wypisie, ew. po 30 dniach od transplantacji, w zależności od wystąpienia DGF.

Z merytorycznego punktu widzenia wyrażam opinię, że oceniana rozprawa stanowi istotny wkład do wiedzy o roli biomarkerów w prognozowaniu funkcji nerki przeszczepionej. Kończąc pragnę jeszcze raz podkreślić istotne walory poznawcze wykonanych badań, ich nowoczesność i oryginalność. Rozprawa doktorska lek Piotra Edyko spełnia ustawowe wymogi uzyskania stopnia naukowego doktora nauk medycznych. Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek Piotra Edyko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Jolanta Małyszko
katedra nefrologii i klinicznej
nephrologii, hipertensjologii,
choroby wewnętrzne
3365446