Kraków, dnia 27 lipca 2022 roku

Prof. UJ dr hab. n. med. Paweł Rubiś
Klinika Chorób Serca i Naczyń UJ CM
Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II
31-202 Kraków, ul. Prądnicka 80

Recenzja rozprawy doktorskiej lekarz Karoliny Borowiec
Tytuł rozprawy: *„Wartość kliniczna i prognostyczna wybranych markerów włóknienia miokardium w arytmogennej kardiomiopatii prawej komory"*
Promotor: prof. dr hab. n. med. Elżbieta K. Biernacka

Arytmogenna kardiomiopatia prawej komory (ang. *arrythmogenic right ventricular cardiomyoapthy – ARVC*) jest rzadką aczkolwiek poważną pierwotną chorobą mięśnia serca, rozpoznawaną zwykle u młodych dorosłych (III-IV dekada życia). Przebieg kliniczny choroby jest zwykle mocno objawowy, charakteryzujący się napadowymi zaburzeniami rytmu serca, zarówno nadkomorowymi jak i komorowymi, które często są źle tolerowane przez chorych, ograniczają codzienne funkcjonowanie oraz obniżają jakość życia. Ponadto utrwalone komorowe zaburzenia rytmu serca mogą bezpośrednio prowadzić do zgonu w mechanizmie arytmicznym. Powszechne wprowadzenie implantowanych kardiowerterów-defibrylatorów (ICD) i częste ich stosowanie w ARVC w znaczący sposób poprawiło rokowanie pacjentów poprzez zmniejszenie częstości nagłych zgonów arytmicznych. Z drugiej strony silna tendencja do arytmii w ARVC może prowadzić z jednej strony do nieadekwatnych interwencji wysoko-energetycznych (arytmia nadkomorowa) jak również „burzy eklektycznej", która jest spowodowana ustawicznymi częstoskurczami komorowymi. Pewnym rozwiązaniem, choć nie zawsze doskonałym, jest ablacja ognisk arytmicznych, który są niestety liczne i tworzące się na nowo. Pomimo przedstawionych problemów arytmicznych, są one jednak coraz lepiej kontrolowane, a obecnie główną przyczyną zgonów w ARVC jest postępująca niewydolność prawej komory. Przed erą ICD/ablacji, zdecydowana większość pacjentów umierała z powodów arytmicznych, nie dożywając do krytycznej dysfunkcji prawej komory, prowadzącej do ciężkiej niewydolności serca. Obecnie leczenie pacjentów z niewydolnością serca w przebiegu ARVC jest coraz częstsze, a z racji tego, że niewydolność jest zwykle postępująca jedynym ratunkiem dla chorych staje się przeszczep serca. Choć diagnostyka ARVC nie jest prosta, to jednak jest jasno skodyfikowana i opisana w wytycznych. Z drugiej strony monitorowanie pacjentów, w tym określenie tzw. „kamieni milowych", jak moment kwalifikacji do ICD, ablacji, a przede wszystkim do przeszczepienia serca jest już trudniejsza. Należy jasno zaznaczyć, że diagnostyka obrazowa oparta o rezonans magnetyczny, tak popularna i stale rozwijająca się w innych chorobach, w tym kardiomiopatiach, w ARVC ma zdecydowanie mniejsze znaczenie. Powodem tego jest częsta obecność ICD i o ile badanie rezonansu nie jest już dzisiaj przeciwwskazane w kompatybilnych ICD, to z racji bardzo licznych artefaktów jakość tych badań jest niska. Zwykle pacjenci z ARVC mają jedynie wyjściowe badanie rezonansu (przed implantacją ICD), natomiast późniejsze monitorowanie progresji choroby jest w zasadzie oparte o badanie echokardiograficzne.

Przydatność diagnostyczna i prognostyczna krążących biomarkerów jest intensywnie badana w wielu obszarach medyny, w tym w kardiologii. Pomimo ogromnego nakładu środków, setek badań i tysiącach publikacji, dotychczas udowodniono wartość prognostyczną dla jedynie kilku biomarkerów, zwłaszcza dla peptydów natriuretycznych i troponiny. Pozostałe markery nie okazały się lepsze od dwóch ww.

wymienionych, stąd też kliniczne znaczenie zdecydowanej większości z nich jest znikome. Czy biomarkery mają rzeczywiste znaczenie w ARVC dotychczas pozostawało bez odpowiedzi.

Powyższe zagadnienia stały się punktem wyjścia recenzowanej rozprawy doktorskiej lekarz Karoliny Borowiec z Kliniki Wad Wrodzonych Serca Narodowego Instytutu Kardiologii w Warszawie. Podjęcie trudnego zagadnienia poszukiwania wartości biomarkerów w diagnostyce i rokowaniu w ARVC należy uznać za w pełni uzasadnione, a złożona metodyka badawcza, analiza statystyczna i krytyczne wnioskowanie dodatkowo podnoszą wartość naukową całej pracy. Ośrodek Doktorantki jest uznanym w Polsce i na świecie centrum referencyjnym kardiomiopatii stąd też możliwość realizacji przez Doktorantkę badań nad ARVC pod kierunkiem znanych ekspertów, w tym Promotora Doktorantki. Doktorantka wraz z zespołem przebadała 91 pacjentów z ARVC co samo z siebie zasługuje na najwyższe uznanie, jako że jak na chorobę rzadką jest to bardzo duża grupa pacjentów – z pewnością największa w Polsce i jedna z większych w Europie. Ośrodek Doktorantki posiada ogromne doświadczenie w badaniach nad ARVC, poparte licznymi publikacjami. Promotor Doktorantki jak również inni naukowcy z Ośrodka są gwarancją badań najwyższej jakości.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska jest monografią dotyczącą problematyki wybranych biomarkerów: (1) o udowodnionym znaczeniu w kardiologii, specyficznych dla serca: NT-proBNP i troponiny; oraz (2) powiązanych z procesem włóknienia narządowego: rozpuszczalna forma białka ST2 (sST2), galektyna-3 (gal-3) i metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMPs) jako potencjalnych markerów diagnostyczno-rokowniczych w ARVC. Projekt był realizowany w Narodowym Instytucie Kardiologii w latach 2018 – 2022. Jako źródło finansowania wykazano pracę statutową nr 3.14/VII/18.

Rozprawa doktorska składa się z 93 stron, w tym ze strony tytułowej, podziękowań i spisu treści. Układ rozprawy jest typowy i podzielony na:

- Streszczenie
- Wstęp
- Cele i hipotezy badawcze
- Metodykę pracy
- Wyniki
- Dyskusję
- Ograniczenia pracy
- Wnioski
- Spis tabel i rycin
- Streszczenie w języku angielskim
- Piśmiennictwo

W 10-stronnicowym Wstępie Doktorantka merytorycznie omawia szczegóły trudnej jednostki chorobowej, jaką jest ARVC, w tym epidemiologię, etiologię, szczegółowe kryteria diagnostyczne, rokowanie i leczenie. Następnie wprowadzone jest pojęcie biomarkerów – tych znanych (NT-proBNP, troponina – TnT) oraz będących przedmiotem badania – markerów powiązanych z włóknieniem. Wstęp kończy się podsumowaniem aktualnej wiedzy na temat biomarkerów w ARVC.

Podstawowym celem rozprawy jest ocena porównawcza wartości diagnostyczno-prognostycznej wybranych markerów włóknienia (sST2, Gal-3, MMP-2 i MMP-9) z uznanymi markerami sercowymi

(NT-proBNP, hsTnT) w ARVC. Szczegółowe cele obejmują: (1) poszukiwanie zależności między biomarkerami a obrazem morfologicznym i czynnościowym oraz objawami w ARVC; (2) określenie zależności między biomarkerami a wywiadem arytmii; (3) określenie wartości prognostycznej biomarkerów w przewidywaniu punktów końcowych; (4) określenie wartości prognostycznej biomarkerów w przewidywaniu groźnych zaburzeń rytmu serca. Należy podkreślić jasne określenie hipotezy zerowej i alternatywnej badania, co wskazuje na głębokie zrozumienie przez Doktorantkę całego procesu badawczego – od momentu zaprojektowania badania, poprzez realizację, opracowywanie wyników i krytyczne wnioskowanie.

W rozdziale poświęconym Metodyce przedstawiono na „osi czasu" (co jest bardzo czytelne) „kamienie milowe" badania oraz zdefiniowano punkty końcowe. Omówiono kluczowe informacje kliniczne, EKG, badań obrazowych (echo serca, rezonans) oraz użyte metody laboratoryjne. Rozdział kończy się syntetycznym opisem metod statystycznych.

Rozdział poświęcony wynikom jest bardzo rozbudowany i zawiera m. in. 16 tabel i 7 rycin. W kluczowej tabeli 2 przedstawiona jest szczegółowa charakterystyka badanej grupy. Kolejno przedstawione są szczegóły występowania punktów końcowych [w trakcie 36,4 miesięcznej obserwacji złożony punkt końcowy wystąpił u 13 (14%) pacjentów], a następnie zarówno w tabeli jak i graficznie przedstawiono stężenia badanych biomarkerów. Podano wiele ciekawych analiz biomarkerów. Z punktu widzenia określonych celów pracy, najważniejsze zależności dotyczą: (1) korelacji między sST2, MMP-2, NT-proBNP i TnT a rozstrzenią prawej komory, dysfunkcją skurczową obu komór, niedomykalnością trójdzielną i wymiarem przedsionków; (2) u pacjentów z poważną arytmią nad- i komorową obserwowano wyższe wartości MMP-2, NT-proBNP i TnT; (3) u pacjentów, u których wystąpił złożony punkt końcowy notowano wyższe wartości sST2, MMP-2, NT-proBNP i TnT; (4) natomiast w analizie wieloczynnikowej niezależnymi czynnikami wystąpienia punktu końcowego okazały się: częstoskurcz przedsionkowy, pole prawej komory > 39 cm^2 i NT-proBNP > 890 pg/ml; (5) nie obserwowano zależności między żadnym z analizowanych biomarkerów a komorowymi zaburzeniami rytmu w obserwacji oraz (6) MMP-2 jako jedyny okazał się być predyktorem napadowej arytmii nadkomorowej.

Dyskusja obejmuje 11 stron i jest ciekawym komentarzem oraz próbą wyjaśnienia obserwowanych wyników, na tle dostępnej literatury. Liczne odniesienia do piśmiennictwa świadczą o dokładnej znajomości zagadnienia. W ograniczeniach pracy autorzy wymieniają m. in. „małą" grupę chorych – trudno się z tym zgodzić – jak podkreślano powyżej, biorąc pod uwagę pracę jedno-ośrodkową jest to naprawdę duża grupa chorych z ARVC. Oczywiście badania na większych i bardziej zróżnicowanych etnicznie i genetycznie grupach mogą mieć dużą wartość ale wymagają już współpracy wielo-ośrodkowej. Podobnie w opinii recenzenta wyodrębnienie przeszczepu serca jako elementu złożonego punktu końcowego jest bardzo słuszne ponieważ jak wykazano m. in. w tej pracy – przeszczep serca jest integralną składową leczenia chorych z ARVC (a nie jedynie kazuistyką). Recenzent zgadza się w pełni z autorami w sprawie ograniczeń rezonansu magnetycznego w ARVC – jest to rzeczywiście istotny problem w tej grupie. Diagnostyka obrazowa oparta jedynie o echokardiografię może być sub-optymalna, zwłaszcza u chorych ze słabym oknem akustycznym. Pewną pomocą może być tomografia komputerowa serca choć na obecnym etapie nie jest to jeszcze badanie jakościowo tożsame z rezonansem.

Podsumowując niniejszy projekt kompleksowo badał znaczenie biomarkerów w ARVC. Badanie dostarczyło szeregu nowych danych, które nie były dotychczas publikowane. Na szczególną uwagę zasługuje 3-składnikowy model prognostyczny w ARVC – na podstawie trzech łatwo dostępnych parametrów (częstoskurcz przedsionkowy w wywiadzie, pole prawej komory i NT-proBNP) można

określić prawdopodobieństwo zgonu lub przeszczepu serca w ARVC. Po raz pierwszy wykazano, że MMP-2 może mieć wartość predykcyjną w arytmii nadkomorowej. Z pewnością pewnym „rozczarowaniem" jest ograniczona wartość badanych biomarkerów, które choć wykazują prostą zależność z punktami końcowymi, to w bardziej złożonych analizach tracą swoją „moc" statystyczną na rzecz innych parametrów. Należy podkreślić, że nie jest to jakikolwiek zarzut natomiast dojrzale należy przedstawiać i publikować wyniki, które nie zawsze są „zgodne z naszymi oczekiwaniami". Szczególnie tematyka biomarkerów jest pełna takich „negatywnych" badań, tzn. braku jednoznacznych i silnych zależności między badanymi markerami a ocenianymi punktami końcowymi. Zaproponowano już szereg prób wytłumaczenia tych zjawisk, z których jedno ma najprawdopodobniej znacznie fundamentalne – zależność między krążącymi markerami, a ich rzeczywistymi odpowiednikami w tkance czy narządzie może być słaba – czyli wartości mierzone w krwi mogą nie oddawać dynamiki procesu narządowego, a pochodzenie badanych biomakerów może być wielorakie.

Udzielone odpowiedzi na jedne pytania – od razu generują kolejne i zmuszają do kolejnych badań i analiz. Doktorantka wraz z zespołem w pełni zrealizowała podstawowe cele pracy. Bazując na przedstawionych przez Doktorantkę wynikach pojawia się kilka pytań, na które odpowiedzi mogą dodatkowo przyczynić się do lepszego zrozumienia badanych problemów:

- Czy w tej grupie pacjentów, u których wykonano rezonans serca (przed ICD) oceniono obszary włóknienia serca (zastępcze – LGE, śródmiąższowe – T1-mapowanie)? Czy próbowano analizować markery z włóknieniem stwierdzonym w rezonansie?
- Częstoskurcz przedsionkowy (AT) okazał się niezależnym predyktorem złożonego punktu końcowego. Częstość AT wyniosła jedynie 13% w całej populacji. W analizie jednoczynnikowej arytmia nadkomorowa traktowana łącznie (AF/AFL/AT) miała również wysoki HR. Czy z klinicznego punktu widzenia nie powinno się raczej traktować łącznie arytmii nadkomorowej – występuje w zdecydowanie większym odsetku chorych, a szczególnie AF ma udowodniony negatywny wpływ na przebieg ARVC i niewydolności serca?
- Ocena czynności prawej komory jest znacznie trudniejsza niż lewej, zwłaszcza gdy brak możliwości wykonania rezonansu. W kryteriach rozpoznania ARVC znajduje się ocena zmiany pola powierzchni prawej komory. Jest to jedna z metod oceny prawej komory. Czy autorzy oceniali prawą komorę za pomocą innych łatwo dostępnych parametrów echokardiograficznych – TAPSE, prędkość ruchu miokardium – S'? Czy badano zależności między tymi parametrami a biomarkerami?

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2021 r., poz. 478). W związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Narodowego Insytutu Kardiologii o dopuszczenie lekarz Karoliny Borowiec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Paweł Rubiś