WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

KLINIKA CHORÓB WEWNĘTRZNYCH I KARDIOLOGII
z Centrum Diagnostyki i Leczenia Żylnej Choroby Zakrzepowo -Zatorowej

Warszawa, 05.02.2024 r.

Recenzja pracy doktorskiej lek. Pauli Połaskiej: „Analiza związku wybranych markerów krzepnięcia i funkcji śródbłonka z niewydolnością nerek w grupie chorych z niewydolnością serca."

powstałej w Klinice Niewydolności Serca i Transplantologii Narodowego Instytutu Kardiologii w Warszawie. Promotor pracy dr hab. n. med. Tomasz Rywik. Promotor pomocniczy dr n. med. Anna Drohomirecka.

Niewydolność serca [HF] jest złożonym zespołem objawów klinicznych wynikających ze strukturalnej i/lub czynnościowej dysfunkcji mięśnia sercowego. HF ma charakter przewlekły i postępujący. Częstość występowania szacuje się nawet do 3-4% w populacji ogólnej, a wśród osób powyżej 65 roku życia wzrasta ona znacząco, osiągając poziom 20% dla tej grupy wiekowej. Na HF choruje 20 milionów osób na całym świecie, w Polsce około 1 200 000. HF nie tylko znacząco wpływa na jakość życia, ma również ogromny wpływ na codzienne funkcjonowanie chorych, a także dramatycznie pogarsza ich rokowanie. Pomimo nowych terapii, chorobowość i śmiertelność pozostają na bardzo wysokim poziomie ze wskaźnikiem śmiertelności rocznej sięgającym 10%. Co więcej, pacjenci ze schyłkową ciężką HF, wykazują roczną śmiertelność na poziomie niemal 50%. Ponad 40% pacjentów z HF nie przeżywa 5 lat od momentu rozpoznania choroby – co stanowi porównywalny wskaźnik dla większości nowotworów. Należy podkreślić, że HF stanowi najczęstszą przyczynę zgonów w polskiej populacji. Choroby współistniejące często komplikują przebieg HF i są uznanymi czynnikami pogarszającymi rokowanie. W dotychczas opublikowanych metaanalizach jedną z najczęściej wikłających przebieg HF chorób jest niewydolność nerek z częstością występowania 49%.

Niewydolność nerek w istotnym stopniu wpływa na wzrost śmiertelności – wykazano 50% wzrost ryzyka zgonu w przypadku współwystępowania tej patologii z HF, w porównaniu do chorych z HF, ale bez dysfunkcji nerek. Co więcej – śmiertelność wzrasta wraz ze stopniem zaawansowania niewydolności nerek, a szacowany wzrost śmiertelności w grupie chorych z

ciężką dysfunkcją nerek w stosunku do grupy z tylko umiarkowanym ich uszkodzeniem wynosi 80%. Przedmiotem niniejszej rozprawy jest przewlekły zespół sercowo-nerkowy typu 2 – opisuje on bowiem konsekwencje przewlekłej HF i jej wpływ na funkcję nerek. Zespół sercowo-nerkowy występuje u około 50% pacjentów z HF, w porównaniu do populacji ogólnej, w której obniżony eGFR <60ml/min/1,73m^2 występuje z częstością 4.5/100 pacjentów

Wobec powyższego temat wybrany przez lek. Paulę Połaską uważam za ciekawy i aktualny oraz poznawczo i praktycznie istotny.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Pauli Połaskiej jest obszerną monografią. Układ pracy doktorskiej jest typowy i przejrzysty. Tytuł pracy właściwie odzwierciedla treść rozprawy. Wykaz stosowanych skrótów zamieszczony na początku pracy ułatwia lekturę, wprowadzając Czytelnika w terminologię stosowaną przez Doktorantkę.

We wstępie liczącym 19 stron Doktorantka szczegółowo omawia zagadnienia dotyczące przewlekłej niewydolności serca. Wstęp jest podzielony na podrozdziały co ułatwia jego lekturę. Doktorantka przedstawia definicję, patofizjologię, epidemiologię przewlekłej niewydolności serca oraz zespołu sercowo-nerkowego. W interesującym podrozdziale wstępu prezentuje metody oceny funkcji śródbłonka, w kolejnym interesującym podrozdziale przedstawia biomarkery krzepnięcia i fibrynolizy. Na końcu wstępu omawia związek uszkodzonego śródbłonka w HF i podłoże patogentyczne zespołu sercowo-nerkowego typu 2.

Obszerny i szczegółowy wstęp świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki do realizacji pracy doktorskiej. Wstęp skonstruowany w logiczny sposób doprowadza do wysunięcia następujących celów badawczych:

- Ocena wybranych biomarkerów krzepnięcia i funkcji śródbłonka w populacji chorych z HF oraz ocena ich korelacji z parametrami biochemicznymi, hemodynamicznymi i echokardiograficznymi
- Porównanie wybranych biomarkerów zakrzepowych pomiędzy grupą badaną z HF, a grupą kontrolną bez HF.
- Identyfikacja parametrów związanych z upośledzoną funkcją nerek w populacji chorych z HF.
- Określenie związku pomiędzy biomarkerami układu krzepnięcia i funkcji śródbłonka a niewydolnością nerek w przebiegu HF.

Następnie Doktorantka prawidłowo sformułowała hipotezy badawcze.

- Hipoteza zerowa: HF jest stanem zwiększonej aktywności prozakrzepowej.
  Hipoteza alternatywna: Nie ma różnic w odniesieniu do biomarkerów pro i antyzakrzepowych pomiędzy badanymi grupami (pacjenci z HF vs grupa kontrolna – bez HF).
- Hipoteza zerowa: Zaburzenie homeostazy biomarkerów pro i antyzakrzepowych oraz markerów dysfunkcji śródbłonka jest czynnikiem silnie związanym z niewydolnością nerek u chorych z HF.
  Hipoteza alternatywna: Nie ma związku między dysfunkcją śródbłonka i zaburzeniami w obrębie biomarkerów krzepnięcia a niewydolnością nerek w badanej populacji.

W kolejnym rozdziale Doktorantka opisuje metodykę badania. Projekt był realizowany w Narodowym Instytucie Kardiologii (NIK) w Warszawie. Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Narodowego Instytutu Kardiologii (nr zgody 1543). Pacjenci z grupy badanej byli hospitalizowani planowo w Klinice Niewydolności Serca i Transplantologii NIK.

Doktorantka opisuje kryteria włączenia i wyłączenia z badania. W dalszej części rozdziału przedstawia metodykę oceny funkcji śródbłonka metodami fizycznymi (FMD oraz przez badanie podatności naczyń PWA) a także szeroki zakres wykonywanych badań laboratoryjnych oceniając biomarkery zakrzepowe i funkcji śródbłonka.

Badanie zostało zaprojektowane prawidłowo. Metody statystyczne są właściwie dobrane i zastosowane w dysertacji.

Najważniejszą część pracy stanowi prezentacja wyników.

W badaniu uczestniczyło 36 chorych z HF (grupa badana) oraz 19 ochotników (grupa kontrolna). Obie grupy nie różniły się istotnie statystycznie pod względem zmiennych demograficznych takich jak wiek i płeć. Mężczyźni stanowili większość badanej próby, ponad 80% w grupie z HF, a mediana wieku pacjentów wynosiła 52 lata. Pośród pacjentów z HF dominującą etiologią upośledzonej funkcji skurczowej była etiologia inna niż niedokrwienna, która stanowiła ponad połowę tej populacji. Zaawansowaną HF (III i IV klasa wg NYHA) prezentowała połowa badanej populacji chorych z HF.

W testach oceniających reaktywność naczyń, grupa badana i kontrolna prezentowały podobną zależną od śródbłonka reaktywność naczyń ocenianą w FMD (5,0% [0,05-8,5] w HF, vs 4,6% [2,3-6,7] w grupie kontrolnej, p=0,75), a także nie różniły się istotnie pod względem elastyczności małych naczyń odzwierciedlających funkcję śródbłonka ocenianej w PWA (5,5 ml/mmHg x 100 [3,7-7,1] w HF vs 6,4 ml/mmHg x 100 [4,1-9,1] w grupie kontrolnej, p=0,09). Natomiast reaktywność dużych naczyń (podatność dużych naczyń) była wyższa w grupie

pacjentów z HF, w porównaniu do grupy kontrolnej (18,9 ml/mmHg x10 [15,6-23] vs 13,9 ml/mmHg x10 [12,1-17,6], p=0,003). Ponadto stężenie asymetrycznej dimetyloargininy [ADMA] było istotnie wyższe w grupie z HF (1,13μmol/l [0,86-1,4] vs 0,59μmol/l [0,5-0,7], p<0,001).

Podczas analizy parametrów biochemicznych Doktorantka wykazała wyższe stężenie kreatyniny (1,10 mg/dl [1,0-1,4] vs 1,00 mg/dl [0,9-1,0], p=0,005) (przy odpowiednio niższym przesączaniu kłębuszkowym wyrażonym eGFR ocenionym przy pomocy wzoru MDRD) (70,3 ml/min/1,73m^2 [54,9-85,3] vs 82,9 ml/min/1,73m^2 78,2-90], p=0,004) w grupie chorych z HF.

Spośród badanych biomarkerów zwiększonej aktywności zakrzepowej, istotnie wyższe stężenie w grupie chorych z HF zaobserwowano w odniesieniu do stężenia czynnika von Willenbranda [vWF] (1004,6 mU/ml [786,9-1242,3] vs 500,5 mU/ml [373,6-605,6], p<0,001).

W celu zbadania siły związku zmiennych z funkcją nerek, z uwagi na dużą ilość potencjalnych czynników oraz stosunkowo małą liczebność grupy, zastosowano korelację kanoniczną do utworzenia pięciu kategorii/indeksów dla określonych grup zmiennych: 1) parametrów laboratoryjnych; 2) reaktywności naczyń; 3) biomarkerów (parametrów) zakrzepowych; 4) parametrów hemodynamicznych i 5) echokardiograficznych.

Celem korelacji kanonicznej było wykazanie związku między zmiennymi w poszczególnych kategoriach oraz poszczególnymi kategoriami zmiennych a eGFR. W każdej z kategorii wytypowano za pomocą korelacji kanonicznej grupę czynników najsilniej powiązanych z eGFR. Wykazano, że każda z utworzonych kategorii (indeksów) była istotnie związana z funkcją nerek. Indeks biomarkerów zakrzepowych był kategorią zmiennych która miała najsilniejszy związek z eGFR (współczynnik korelacji = 0,7 p<0,0001). W jego skład wchodziły takie parametry jak: sTM, vWF, białko C, tPA. W dalszym etapie analiz utworzono model regresji liniowej wielu zmiennych z wytypowanymi poprzednio indeksami badanych parametrów w celu oceny, która z utworzonych kategorii czynników najsilniej jest związana z eGFR. W tej analizie wykazano, że jedynie biomarkery zakrzepowe, hemodynamiczne i echokardiograficzne są istotnie związane z funkcją nerek. Spośród wszystkich zmiennych indeks biomarkerów zakrzepowych jest najsilniej związany z eGFR, odpowiadał, aż za 48% zmienności przesączania kłębuszkowego. Pozostałe parametry odgrywały mniejszą rolę.

Następnie Doktorantka utworzyła model regresji logistycznej wielu zmiennych w celu oceny, który z utworzonych indeksów jest czynnikiem predykcyjnym upośledzonej funkcji nerek. W tym celu przeprowadzono stratyfikację całej populacji badania w zależności od stopnia dysfunkcji nerek (eGFR <60ml/min/1,73m^2). Spośród wszystkich analizowanych zmiennych jedynie płeć męska (p=0,015) oraz indeks biomarkerów zakrzepowych (p=0,001) były czynnikami niezależnie związanymi z upośledzeniem funkcji nerek. Końcowy model był wysoce predykcyjny (p<0,001) a pole powierzchni pod krzywą wynosiło 0,925.

Wyniki pracy zostały zaprezentowane prawidłowo. Tabele i ryciny są przygotowane starannie i przejrzyście.

W dyskusji lek. Paula Połaska szczegółowo omawia uzyskane wyniki. Sposób prowadzenia dyskusji wskazuje na dużą wiedzę Doktorantki i umiejętność precyzyjnego formułowania swoich poglądów. Piśmiennictwo obejmujące 222 pozycje Doktorantka prawidłowo cytuje w swojej dysertacji.

Cenną częścią pracy jest rozdział „Ograniczenia badania", w którym Doktorantka wskazuje na najważniejsze niedoskonałości badania. Rozdział ten wskazuje na dojrzałość naukową Autorki.

Pracę podsumowują następujące, prawidłowo sformułowane, wnioski:

1. Pacjenci z niewydolnością serca charakteryzują się aktywacją śródbłonka i wyższymi wartościami biomarkerów zakrzepowych.
2. Spośród wszystkich analizowanych parametrów to biomarkery zakrzepowe, także bezpośrednio związane z dysfunkcją śródbłonka są najsilniejszymi niezależnymi czynnikami odpowiedzialnymi za zmienność eGFR.
3. Biomarkery zakrzepowe są niezależnymi czynnikami predykcyjnymi niewydolności nerek w badanej populacji.
4. Oznaczanie biomarkerów zakrzepowych w populacji chorych z HF może potencjalnie umożliwić identyfikację chorych zagrożonych niewydolnością nerek co wymaga potwierdzenia w badaniach prospektywnych.

Streszczenia w języku polskim i angielskim prawidłowo podsumowują najważniejsze aspekty rozprawy. W pracy zawarty jest też spis tabel i spis rycin.

Z obowiązku recenzenta mam następujące spostrzeżenia, uwagi i zapytania:

1. Rozdział „Metodyka", podrozdział 4.2.1. „Badanie echokardiograficzne." Metodyka badania echo jest podana w sposób zbyt skrótowy, bez podania pozycji piśmiennictwa według których wykonywano badanie echokardiograficzne. W metodyce echo brakuje też nowoczesnych technik echokardiograficznych oceniających funkcję lewej komory np. LV strain. Dodatkowo nie oceniono funkcji rozkurczowej lewej komory. Szersze dane echokardiograficzne niewątpliwie wzbogaciły by pracę.

2. W rozdziale „Wyniki" brakuje dokładniejszej charakterystyki 21 pacjentów z HF o etiologii innej niż niedokrwienna. Jakie były najczęstsze przyczyny niewydolności serca w tej podgrupie?

3. Istotnym ograniczeniem badania jest mała, wyselekcjonowana grupa badana o czym Doktorantka wspomina w rozdziale „Ograniczenia badania"

4. Z uwagi na istotny problem kliniczny, rozbudowaną metodykę oraz znaczące naukowo i praktycznie wnioski zachęcam do publikacji wyników dysertacji jako pełnotekstowej pracy oryginalnej.

Jednakże uwagi te nie zmniejszają mojej pozytywnej oceny pracy doktorskiej lek. Pauli Połaskiej. W podsumowaniu pragnę stwierdzić, że powierzona mi do oceny praca doktorska lek. Pauli Połaskiej pt. **„Analiza związku wybranych markerów krzepnięcia i funkcji śródbłonka z niewydolnością nerek w grupie chorych z niewydolnością serca."** spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora nauk medycznych. Upoważnia mnie to do przedstawienia Radzie Naukowej Narodowego Instytutu Kardiologii w Warszawie wniosku o dopuszczenie lek. Pauli Połaskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n med. Michał Ciurzyński

6565404
prof. dr hab. n. med.
Michał Ciurzyński
specjalista chorób wewnętrznych
Kardiolog

ul. Lindley'a 4, 02-005 Warszawa,
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Piotr Pruszczyk, FESC
tel.: (+4822) 502 1144, fax:(+4822) 5022142
mail: kchwk@wum.edu.pl
www.kchwk.wum.edu.pl