Prof. dr hab. med. Piotr Podolec
Klinika Chorób Serca i Naczyń Instytut Kardiologii
Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński
w Krakowskim Szpitalu Specjalistycznym im Jana Pawła II
E mail: ppodolec@interia.pl; tel.: 12 614 3399

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. med. Justyny Anny Szczygieł

pt.: „Analiza czynników wpływających na rokowanie chorych z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym"

Promotor: dr hab. n. med. Jacek Grzybowski, prof. inst.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska lek med. Justyny Anny Szczygieł pt.: „Analiza czynników wpływających na rokowanie chorych z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym" jest monografią o typowym układzie dla monografii i składa się z jedenastu rozdziałów wraz z piśmiennictwem, streszczeniami, spisem tabel i rycin oraz zastosowanych skrótów.

Temat – „czynniki ryzyka, które mogą wpływać na rokowanie chorych z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym", jest niezwykle interesujący i rzadko poruszany w piśmiennictwie. Nadal niestety nie znamy w większości przyczyn i patomechanizmów powstawania tego schorzenia. Ze względu na brak algorytmów postępowania diagnostycznego i terapeutycznego większość chorób mięśnia serca (kardiomiopatii) możemy włączyć do chorób rzadkich. Zgodnie z definicją choroby rzadkiej, poza częstością występowania (1 na 2000 w ogólnej populacji) kluczowe są brak wytycznych diagnostycznych i terapeutycznych oraz niekorzystne rokowanie.

Kardiomiopatia restrykcyjna stanowi ok. 2% wszystkich kardiomiopatii i wiąże się z 30-45 procentową śmiertelnością w ciągu pięciu lat od rozpoznania choroby. Najczęstszą przyczyną kardiomiopatii restrykcyjnej w Europie jest amyloidoza łańcuchów lekkich (amyloidoza AL) a średnie przeżycie w momencie wystąpienia zastoinowej niewydolności serca wynosi od 4 do 6 miesięcy.

Doktorantka we wstępnie przedstawia najważniejsze informacje dotyczące kardiomiopatii restrykcyjnej w tym definicję i eidemiologię. Szczegółowo przedstawia zagadnienia dotyczące amyloidozy, kardiomiopatii restrykcyjnej nieamyloidozowej oraz dotychczas poznane czynniki rokownicze. Doktorantka słusznie zauważa, że zgodnie

z aktualną europejską klasyfikacją amyloidozę można zaliczyć do kardiomiopatii przerostowej z uwagi na znaczące pogrubienie ściany serca, choć pogrubienie to nie wynika z przerostu mięśnia a z odkładaniem się włókien amyloidu pomiędzy kardiomiocytami. Ze względu na wiele możliwych mutacji genów białek sarkomerowych rozgraniczenie między fenotypem kardiomiopatii restrykcyjnej i przerostowej jest niekiedy trudne, co przekłada się także na nasze obserwacje kliniczne. Obserwujemy niekiedy w jednej rodzinie pacjentów z typowym obrazem kardiomiopatii przerostowej i restrykcyjnej bez przerostu mięśnia serca.

Celem badań Doktorantki była identyfikacja czynników, które wpływają na rokowanie u pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym niezależnie od przyczyny choroby. Przedstawiona hipoteza badawcza oraz cele pomocnicze świadczą o dobrym rozeznaniu piśmiennictwa światowego i próby uzupełnienia naszej wiedzy o ocenę tzw. nowych biomarkerów GDF15 i sST2 w przewidywaniu śmiertelności pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym niezależnie od przyczyny choroby. Znane są dodatnie korelacje tych biomarkerów z występowanie śmiertelności i stanu klinicznego u pacjentów z amyloidozą. Dotychczas nie zaprezentowano danych na temat przydatności klinicznej oceny stężeń sST2 i GDF15 u pacjentów z kardiomiopatią restrykcyjną nieamyloidową.

Bardzo wysoko oceniam temat i podjęcie badań u pacjentów z amyloidozą i kardiomiopatią nieamyloidową. Badanie prowadzono po uzyskaniu pozytywnej opinii Komisji ds. Nauki i Komisji Bioetycznej Narodowego Instytutu Kardiologii w Warszawie.

Do badania Doktorantka włączyła kolejnych 36 pacjentów z kardiomiopatią restrykcyjną w tym: 14 z amyloidozą AL, 4 z amyloidozą ATTR oraz 18 z kardiomiopatią restrykcyjną nieamyloidową.

Kryterium włączenia pacjentów do badania, poza pisemną zgodą na udział w badaniu, były echokardiograficzne kryteria rozpoznania kardiomiopatii o profilu restrykcyjnym. Do badania nie włączono jednego pacjenta z amyloidozą AL, który nie wyraził zgody na badania oraz jednego również z amyloidozą AL ze schyłkową niewydolnością nerek leczoną dializoterapią.

Na szczególną uwagę zasługuje szeroki wachlarz i szczegółowy opis przeprowadzonych badań diagnostycznych oraz diagnostyki różnicowej amyloidozy AL i ATTR z wykorzystaniem badań echokardiograficznych, biopsji wielonarządowej i endomiokardialnej, badań genetycznych, scyntygrafii całego ciała z użyciem kwasu 3,3-

difosfono-1,2-propanodikarboksylowym znakowanym radioaktywnym technetem (Tc-99m-DPD) oraz kompleksowej oceny wyników badań przez wielospecjalistyczny zespół składający się z patomorfologów, genetyków, specjalistów z zakresu medycyny nuklearnej i hematologów. Przeprowadzono badania immunohistochemiczne z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych przeciwko: składowej A amyloidu, transtyretynie, łańcuchom lekkim kappa i lambda. Oznaczono stężenia wolnych łańcuchów lekkich lambda i kappa w surowicy oraz badania w kierunku obecności białka monoklonalnego w surowicy i w próbce z dobowej zbiórki moczu techniką immunofiksacji, wykonywano trepanobiopsję i oznaczono mielogram i cytometrię przepływową aspiratu szpiku kostnego. Do badania włączono 4 pacjentów z rozpoznaną amyloidozą ATTR o profilu restrykcyjnym. Niestety nie u wszystkich badanych można było przeprowadzić pełną analizę wyników w/w badań.

Do główne punktów końcowych Doktorantka zaliczyła: czas przeżycia, zgony (czterech pacjentów po przeszczepie serca słusznie wyłączono z analizy przeżycia), śmiertelność jednoroczną oraz częstość występowania ponownej hospitalizacji spowodowanej zaostrzeniem niewydolności serca.

Wyniki badań oraz zastosowanie nowoczesnych metod statystycznych a także precyzyjny opis tych metod świadczą o dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia badań naukowych.

Wielokierunkowe analizy porównawcze wyników badań pacjentów z restrykcyjną kardiomiopatią nieamyloidową (18 pacjentów) z podgrupą pacjentów z amyloidozą zostały przedstawione w formie opisowej z ilustracjami w formie tabel i wykresów.

Cztery osoby z podgrupy z restrykcyjną kardiomiopatią nieamyloidową słusznie zostały wykluczone z analizy przeżycia z powodu przeszczepienia serca. Natomiast 4 pacjentów, u których rozpoznano amyloidozę ATTR, wyłączono z analizy podgrup ale uwzględniono ich w analizie przeżycia. Tak więc analizę przeżycia wykonano dla grupy 32 pacjentów.

W sposób staranny, przejrzysty i zrozumiały dla czytelnika Doktorantka kolejno przedstawiła: charakterystykę kliniczną pacjentów, analizę przeżycia za pomocą krzywych Kaplana-Meiera, analizę wpływu kurczliwości komór na rokowanie pacjentów. Z wykorzystaniem zmiennych ilościowych porównano wyniki pacjentów z amyloidozą łańcuchów lekkich oraz pacjentów z kardiomiopatią restrykcyjną nieamyloidową oraz określono korelację tych zmiennych z występowaniem zgonów i czasu przeżycia. Kolejny ważny podrozdział badań dotyczył oceny wpływu stężeń biomarkerów kardiologicznych – NT-proBNP, GDF15 i sST2 na śmiertelność pacjentów z kardiomiopatią o profilu

restrykcyjnym. Doktorantka przeprowadziła, analizę modeli regresji Coxa dla pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym, amyloidozą łańcuchów lekkich oraz kardiomiopatią restrykcyjną nieamyloidową. Cykl analiz badawczych kończy analiza przewidywania śmiertelności pacjentów z kardiomiopatią restrykcyjną na podstawie krzywych ROC oraz analiza korelacji stężeń GDF15 i sST2 z innymi zmiennymi u pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym.

W V rozdziale, zgodnie ze standardem rozprawy doktorskiej, przedstawiono omówienie wyników i dyskusję. Doktorantka szczegółowo omówiła i analizowała wyniki badań echokardiograficznych, biomarkerów kardiologicznych w tym NT-proBNP i troponiny T oraz GDF15 i sST2 pod kątem czynników prognostycznych w kardiomiopatii o profilu restrykcyjnym.

Ważną częścią tego rozdziału są także badania i analizy różnic czasu obserwacji, wieku pacjentów, stężeń białka całkowitego i albuminy oraz w aktywności aminotransferazy alaninowej pomiędzy pacjentami z amyloidozą łańcuchów lekkich i kardiomiopatią restrykcyjną nieamyloidową a także ocena wpływu ciśnienia tętniczego, występowania migotania przedsionków i częstości rytmu serca oraz przeszczepienia serca na rokowanie pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym.

Z obserwowanej grupy chorych, z powodu niewydolności serca, zmarło 14 pacjentów (11 z amyloidozą AL oraz 3 z kardiomiopatią restrykcyjną nieamyloidową) średnio po 5,5 miesiącach obserwacji. Śr. czas obserwacji dla pozostałych 18 pacjentów wynosił 19 miesięcy.

Ocena kurczliwości prawej komory serca (TAPSE) okazała się dla wartości > 18 mm, (wartość 18 mm została wyznaczona na podstawie krzywej ROC), dobrym wskaźnikiem lepszego rokowania dla pacjentów z kardiomiopatią restrykcyjną (testu Log-rank: $\chi^2(1) = 4{,}9$; $p = 0{,}03$).

Odnotowano pięć istotnych różnic pomiędzy grupą pacjentów z amyloidozą łańcuchów lekkich oraz pacjentów z kardiomiopatią restrykcyjną nieamyloidową pod względem zmiennych jakościowych. Osoby z kardiomiopatią restrykcyjną w przebiegu amyloidozy AL częściej miały płyn w jamie opłucnowej lub osierdziu, częściej były ponownie hospitalizowane z powodu ostrej niewydolności serca, częściej umierały w ciągu pierwszego roku obserwacji i częściej umierały w czasie trwania badania.

Stężenie GDF15 okazało się istotnym czynnikiem przewidującym śmiertelność 32 pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym w jednoczynnikowym modelu regresji Coxa oraz istotnym czynnikiem przewidującym wystąpienie złożonego punktu końcowego

(śmierć i/lub przeszczepienia serca) w całej badanej grupie 36 osób w modelu jednoczynnikowym. Analiza dla biomarkerów: GDF15, NT-proBNP, sST2 i hs-TnT w przewidywaniu śmiertelności pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym potwierdziła istotność wszystkich biomarkerów. Natomiast jedynie dla NT-proBNP i GDF15 uzyskano istotność w przewidywaniu złożonego punktu końcowego tj zgonu i/lub przeszczepienia serca. GDF15 i sST2 nie były istotnymi czynnikami prognostycznymi w grupie pacjentów z amyloidozą AL. Najprawdopodobniej brak tej zależności wynika ze zbyt małej grypy pacjentów z amyloidozą AL.

Na podstawie przeprowadzonych badań oraz obszernej dyskusji Doktorantka podała cztery wnioski, które wynikają bezpośrednio z prowadzonych badań.

- funkcja skurczowa prawej komory (TAPSE) wykazywała wpływ na przeżycie pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym,
- kurczliwość lewej komory wyrażona frakcją wyrzucania (LVEF) nie wykazywała wpływu na przeżycie pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym,
- stężenie troponiny T w surowicy mierzone testem wysokiej czułości (hs-TnT), zwiększona ilość płynu w worku osierdziowym oraz końcoworozkurczowy wymiar lewej komory miały wpływ na przeżycie pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym,
- rokowanie pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym było poważne. Amyloidozę łańcuchów lekkich (amyloidozę AL) rozpoznawano w zaawansowanym stadium choroby. Amyloidoza AL wiązała się z gorszym rokowaniem niż kardiomiopatia restrykcyjna nieamyloidowa.
- stężenia GDF15 i sST2 podobnie jak stężenia NT-proBNP i hs-TnT pozwalały przewidywać ryzyko śmierci u pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym. Dalsze badania nad znaczeniem tych biomarkerów u pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym byłyby wskazane.

Uwagi do przedstawionych wniosków - proponuję połączenie pierwszego i drugiego wniosku gdyż dotyczy to wyników badania echokardiograficznego i oceny jednego parametru tj przeżycia pacjentów. Propozycja zmiany redakcji wniosku: „Obniżona funkcja skurczowa prawej komory (TAPSE) wpływa na przeżycie pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym natomiast nie wykazano takiej korelacji dla kurczliwość lewej komory wyrażonej frakcją wyrzucania (LVEF).

Uważam, że określenie rokowania jako „poważne" jest zbyt subiektywne i powinno zostać uzupełnione o podanie wskaźnika przeżycia lub odsetka zgonów w określonym czasie.

Podsumowując moją ocenę rozprawy doktorskiej lek. med. Justyny Anny Szczygieł pozwalam sobie na wyrażenie uznania prowadzenia badań w grupie pacjentów z chorobą rzadką. Dowiedziono słuszności hipotezy badawczej i Doktorantka wykazała, że funkcja prawej komory (TAPSE) ma wpływ na rokowanie chorych z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym oraz że funkcja skurczowa lewej komory, nie ma wpływu na rokowanie chorych z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym. Podobnie stężenia mało znanych biomarkerów GDF15 i sST2 jak i stężenia NT-proBNP i hs-TnT pozwalają na przewidywanie ryzyka śmierci u pacjentów z kardiomiopatią o profilu restrykcyjnym.

Ważną częścią ocenianej rozprawy doktorskiej jest obszerne i równocześnie krytyczne omówienie przez Doktorantkę stosowanego algorytmu diagnostycznego w Narodowym Instytucie Kardiologii oraz przedstawienie modelowego współczesnego algorytmu diagnostycznego amyloidozy w cytowanym ośrodku z Mayo Clinic (USA).

Za niezwykle ważny i cenny uważam podrozdział, w którym Doktorantka przedstawiła perspektywy diagnostyczne i terapeutyczne dla amyloidozy. To niezwykłe kompendium współczesnej wiedzy, oparte na aktualnym piśmiennictwie, o tej rzadkiej chorobie zawierające także wskazówki na przyszłość. Doktorantka słusznie podkreśliła, że bez tworzenia wielospecjalistycznych zespołów, rejestrów i kontynuacji badań naukowych nie jest możliwa pomoc pacjentom z tą wielonarządową chorobą.

Niewątpliwymi ograniczeniami rozprawy doktorskiej lek med. Justyny Anny Szczygieł są: mała liczebność grupy badanej, niedostępność części wyników badań echokardiograficznych i laboratoryjnych oraz nieuwzględnienie nowszych metod diagnostycznych – echokardiograficznych i rezonansu magnetycznego serca a także nieuwzględnienie w analizach długości życia stosowanego leczenia hematologicznego i kardiologicznego. Pomimo tych ograniczeń uważam, że zgromadzenie kilkunastu pacjentów z amyloidozą oraz wieloletnia ich obserwacja jest rzadkością i ma niezwykle cenne znaczenie w praktyce klinicznej.

Powyższe uwagi nie zmniejszają mojej wysokiej oceny i pomimo licznych w/w ograniczeń uważam rozprawę doktorską za ważne osiągnięcie naukowe oraz kliniczne. Wyniki badań pogłębiają naszą wiedzę o rzadkiej chorobie mięśnia serca i jestem przekonany, że wnioski z przeprowadzonego badania zostaną wykorzystane w tworzeniu nowych

algorytmów diagnostycznych dla amyloidozy. Zachęcam do przedstawienia wyników w formie publikacji.

Zwracam się do wysokiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Kardiologii im. Kardynała Stefana Wyszyńskiego o dopuszczenie lek med. Justyny Anny Szczygieł do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz przyznanie wyróżnienia.

Prof. dr hab. med. Piotr Podolec

Kraków, 15 kwietnia 2021 r.