Dr hab. med. Piotr Rozentryt, prof. SUM
III Katedra i Kliniczny Oddział Kardiologii,
Śląskie Centrum Chorób Serca,
Zabrze 41-800, Ul. Curie – Skłodowskiej 9

Zabrze 10.3.2020 r.

RECENZJA

rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lek. med. Anny Furman-Niedziejko pt.:

"Ocena związku pomiędzy stężeniem NT-proBNP w surowicy a polimorfizmami genów dla prekursora NT-proBNP i jego receptorów u chorych z przewlekła niewydolnością serca i obecnym zespołem metabolicznym"

Promotor pracy: prof. dr hab. med. Jadwiga Nessler

Kompozycja pracy

Przedstawiona do recenzji praca liczy 125 stron i zawiera oryginalne badania Autorki.

Układ pracy jest zbliżony do klasycznego i składa się ona z następujących części:

- Strona tytułowa (str. 1).
- Podziękowanie (str. 3).
- Spis treści pracy (str. 5 - 6).
- Wykaz skrótów (str. 7 - 10).
- Wprowadzenie (str. 11 - 27).
- Ogólne i szczegółowe cele pracy oraz hipotezy badawcze (str. 28 - 29).
- Grupy badane (str. 30 - 32).
- Metodyka (str. 33 - 44).
- Wyniki (str. 45- 75).
- Dyskusja (str. 76 – 100).
- Wnioski – Autorka podsumowała swoje badania w 6 wnioskach (str. 101- 102).
- Ograniczenia pracy (str. 103 – 105),
- Piśmiennictwo (str. 106 - 112).
- Streszczenie w języku polskim (str. 113 - 117).
- Streszczenie w języku angielskim (str. 118 - 121).
- Spis tabel ze spisem rycin (str. 122 - 125).

Ogólne wrażenie

Dysertację czyta się z trudnością. Jest napisana nierówno, chwilami wzbudza duże zainteresowanie, chwilami zaś wydaje się po prostu „przegadana" i przytłacza wielością informacji, które

następnie nie są w pracy wykorzystane. W odróżnieniu od fragmentów poświęconych fizjologii układu peptydów natriuretycznych i ich roli w niewydolności serca, które są napisane poprawnie, ale większości kardiologów dobrze znane, akapity poświęcone badaniom genetycznym polimorfizmów genów związanych z peptydami natriuretycznymi wzbudzają dużą uwagę czytelnika. Ma to nie tylko związek ze stosunkowo rzadko w kardiologii klinicznej poruszaną tam tematyką, ale wynika także z gwałtownie docenianej i rosnącej roli peptydów natriuretycznych w patofizjologii niewydolności serca, a także w otyłości i cukrzycy bez konsekwencji w postaci niewydolności serca. Te, skądinąd trudne fragmenty, czytałem dwukrotnie, każdorazowo z dużym zaciekawieniem i – muszę to uczciwie przyznać – uznaniem dla Doktorantki, że zaangażowała się z tak złożoną tematykę.

Praca napisana jest poprawną polszczyzną, choć czasami trafiają się fragmenty z niezgrabną konstrukcją zdań, kolokwializmami, dostrzegłem także pewne braki interpunkcyjne.

We wprowadzeniu do rozprawy Autorka w 5 podrozdziałach przedstawia podstawowe informacje na temat niewydolności serca, zespołu metabolicznego, fizjologii i patofizjologii systemu peptydów natriuretycznych w niewydolności serca i otyłości, kończąc danymi na temat polimorfizmów genów związanych z peptydami natriuretycznymi i ich receptorami. Ten fragment napisany jest bardzo poprawnie, z pewnym polotem, przez tekst przebija głęboka znajomość tematu.

Autorka przyjęła za swoje zasadnicze cele zbadanie związku polimorfizmów 3 różnych białek (jednego prekursora peptydów natriuretycznych i 2 receptorów dla peptydów natriuretycznych) u chorych z niewydolnością serca, dodatkowo obciążonych zespołem metabolicznym. W dalszej części wymienione zostaje 6 celów szczegółowych i 4 hipotezy badawcze. Zarysowanie celów jest bardzo ambitne, niektóre z nich wykraczają nawet poza zakres badań zarysowany w tytule pracy.

Rozdział poświęcony zdefiniowaniu badanej grupy zawiera klarowne kryteria, w 3 podrozdziałach Doktorantka przedstawia szczegółowo charakterystykę wyłonionej kohorty oraz kryteria jej podziału na podgrupy.

Opis metod badawczych i obserwacji klinicznej składają to kolejny rozdział. Jest on bardzo szczegółowy, przegadany i odnosi się wrażenie nadmiarowości umieszczonych tam informacji. W stosunku do tej zbyt rozbudowanej części tyczącej kliniki, badaniom biochemicznym i antropometrycznym, bardzo pozytywnie wyróżnia się część opisująca badania genetyczne. Jest ona napisana precyzyjnie i szczegółowo. Tutaj stanowi to zaletę, jest to przecież zasadnicza część badań. W rozdziale tym omówiono także stosowane w pracy analizy statystyczne z uwzględnieniem sposobu analizy genetycznej. Dane dostarczone tutaj są jednak mało szczegółowe. Odnosi się wrażenie, jakby Doktorantka nie do końca zdawała sobie sprawę, które informacje są kluczowe, a które stanowią jedynie dodatek.

Największym rozdziałem pracy jest fragment poświęcony wynikom. Autorka przedstawia wyniki swoich badań w 5 podrozdziałach, gromadząc je w 16 tabelach i 15 rycinach. Ten rozdział czyta się z trudnością, tabele są mało czytelne, a ich architektura nie ułatwia zrozumienia zawartości. Podobnie wykresy, daleko im do przejrzystości. Potrzeba sporo czasu i niemało wysiłku aby zrozumieć istotę przekazu.

W rozdziale poświęconym dyskusji Autorka konfrontuje uzyskane wyniki z danymi literaturowymi. Przedstawia dane zgodne wynikami własnych badań oraz dane pozostające z nimi w sprzeczności. Doktorantka stara się wskazać potencjalne powody niezgodności własnych danych z literaturą. Rozdział ten czyta się przyjemnie, przebija przez niego dobre oczytanie problemu przez Doktorantkę.

Tematyka badań

W tytule pracy Autorka deklaruje, że przedmiotem jej zainteresowania jest „Ocena związku pomiędzy stężeniem NT-proBNP w surowicy a polimorfizmami genów dla prekursora NT-proBNP i **jego** receptorów u chorych z przewlekła niewydolnością serca". W zadaniu tym „jego" odnosi się albo do prekursora, albo do NT-proBNP, co w obu przypadkach nie jest prawdą. Ta niezgrabność gramatyczna jest unaocznieniem wspomnianych wcześniej usterek językowych.

Pomijając ten w sumie drobny defekt, obrana przez Doktorantkę tematyka jest bardzo ciekawa i doskonale wpisuję się w najbardziej aktualny nurt dociekań patofizjologicznych i klinicznych dotyczący uwarunkowań i roli peptydów natriuretycznych w genezie niewydolności serca. W miarę lektury narasta uznanie dla rozległości przeprowadzonych przez Doktorantkę analiz, choć nie wszystkie bardzo ambitnie zarysowane zadania udało się w pracy z powodzeniem zrealizować.

Założenia i cele pracy

Praca ma charakter w części przekrojowy, wzbogacona jest dodatkowo o 2-letnią obserwację kliniczną. Założenia i cele pracy są sformułowane w klarowny sposób, choć po przeczytaniu celu 3 powstaje pytanie, czy liczba chorych zgromadzona i obserwowana przez Doktorantkę oraz liczba zdarzeń stanowiących punkty końcowe w obserwacji 24 miesięcznej da się w obrębie pracy zrealizować?.

Grupa badana

Dla uzyskania badanej kohorty, w pracy zastosowano kryteria włączenia i kryteria wykluczające. Są one klarownie sformułowane i nie wzbudzają wątpliwości. W oparciu o nie wyłoniono ostateczną grupę badaną liczącą 88 pacjentów. Została ona w dalszej części podzielona na podgrupy względem BMI. W pracy porównano podgrupy z wartością BMI < 27 kg/m^2 i ≥ 27 kg/m^2, a ostateczna liczebność tych podgrup wynosi odpowiednio 35 i 55 chorych. Jest ona jest zbyt mała dla pełnego zrealizowania wszystkich celów pracy, co Autorka wskazuje w ograniczeniach.

Stosowane metody badawcze

Autorka szczegółowo opisała pozyskiwane dane demograficzne, informacje podmiotowe dotyczące wydolności fizycznej, dane o chorobowości w rodzinie oraz o chorobach współistniejących i przebytych zabiegach pacjentów. Dane te uzupełnione są o szczegółowe informacje o leczeniu.

W dalszej kolejności Doktorantka omawia gromadzone badania biochemiczne, dane echokardiograficzne, pomiary antropometryczne pozyskiwane drogą klasycznych pomiarów oraz

badania z wykorzystaniem techniki bioimpedancyjnej. Metody te nie budzą wątpliwości, są zgodne z rekomendacjami Towarzystw Naukowych z wyjątkiem badania bioimpedancyjnego, którego zastosowanie wiąże się z pewnymi ograniczeniami i pułapkami. Części z nich jest Autorka świadoma omawiając je w końcowej części swoje pracy.

W końcu, Autorka przedstawia w sposób bardzo szczegółowy zakres i sposób przeprowadzenia analiz genetycznych. Trudno mi wypowiadać się autorytatywnie na temat poprawności badań genetycznych - nie jestem genetykiem. Są one opisane z dużą starannością i opierając się na porównaniach z innymi znanymi mi opracowaniami wydają mi się poprawne.

Moje wątpliwości związane są z użyciem aparatu bioimpedancyjnego do segmentowego pomiaru składu ciała. Użyty aparat ma zgodnie z deklaracją producenta 8 elektrod i może służyć do pomiarów segmentowych. Odległość elektrod od siebie jest jednak na tyle niewielka, że jest to de facto układ tetrapolarny z 4 parami sąsiadujących bezpośrednio elektrod. Pomiar parametrów składu ciała w obrębie tułowia nie jest tutaj bezpośredni, ale jest wynikiem kalkulacji na podstawie kilku pomiarów dokonywanych pomiędzy parami elektrod, prawa kończyna górna – lewa kończyna górna, prawa kończyna dolna – lewa kończyna dolna i odpowiednio pomiędzy parami kończyn dolnych i górnych. To jest jedynie słabe przybliżenie rzeczywistych wartości. Nie stawiam tego jako zarzut, ale pragnę uświadomić fakt ograniczeń tej metody.

W rozdziale tym wskazano także na sposób prowadzenia 24-miesięcznej obserwacji klinicznej oraz analizowane po zakończeniu obserwacji 4 różne punkty końcowe.

Opracowanie statystyczne

Podstawowa statystyka zastosowana w pracy nie budzi zastrzeżeń. Autorka właściwie testuje charakter rozkładów badanych zmiennych, opisuje badane grupy z wykorzystaniem właściwych miar statystycznych. Dokonywane przez Autorkę porównania grup są zasadne, a testy użyte w tych analizach każdorazowo poprawnie dobrane. Doktorantka bada także relacje pomiędzy różnymi zmiennymi. Wykorzystane tutaj techniki statystyczne nie budzą wątpliwości. Trochę ubogo opisany jest sposób budowania modelu wieloczynnikowego. Opis jest na tyle enigmatyczny, iż miałem kłopot z ustaleniem, ile parametrów było użyte do jego budowy.

Interpretacja wyników i wnioski

Pomimo kilku uchybień, o których poniżej, praca ma aspekty godne pochwały i podkreślenia. Jej trwałą wartością jest analiza genetyczna z wykazaniem związku wybranych polimorfizmów a stężeniem NT-proBNP. Te badania Doktorantki są bez wątpienia frapujące i gdyby praca ograniczyła się jedynie do tego, zasługiwałaby na uznanie. Autorka analizuje występowanie w wyróżnionych grupach chorych 9 różnych genotypów, po 3 dla każdego z białek związanych z układem peptydów natriuretycznych. Porównania pomiędzy grupami chorych nie pozwala stwierdzić różnic w ich częstości. Nie jest jednak wykluczone, iż jest to bardziej efekt małej liczby zbadanych pacjentów w poszczególnych grupach, niż fakt biologiczny. Takie domniemanie jest całkiem zasadne zważywszy różnice procentowe

poszczególnych genotypów.

Doktorantka zbadała także częstość występowania alleli w locus wybranych polimorfizmów genów i porównała uzyskane częstości pomiędzy grupami chorych. I w tym przypadku nie udało się udokumentować różnic, a pytanie o efekt małej liczebności grup pozostaje także tutaj otwarte. Pomimo małej liczebności grup udało się wykazać pewne interesujące związki. Mam tutaj przede wszystkim na myśli obserwację, w której obecność dwóch (spośród 3) polimorfizmów genu dla białka prekursorowego systemu peptydów natriuretycznych, istotnie różnicowało obserwowane stężenie NT-proBNP u pacjentów z niższymi wartościami BMI.

Podobnie ciekawą i ważną klinicznie obserwacją jest obecność niższych wartości ciśnienia tętniczego u chorych z jednym z polimorfizmów genu dla receptora warunkującego transmisję sygnału do docelowej komórki (NPR1). Polimorfizm genu tego receptora wiązał się także z różnicami w obecności nieprawidłowej glikemii na czczo czy nietolerancji węglowodanów. W końcu zauważyć wypada również wykazany przez Doktorantkę związek pomiędzy polimorfizmem genu dla receptora usuwającego peptydy natriuretyczne z krążenia (NPR3), a obecnością hiperlipidemii mieszanej. Te obserwacje uzyskane w warunkach ograniczonej liczebności grupy są największą wartością pracy. Wyniki pracy podsumowane są we wnioskach, które są adekwatną odpowiedzią na postawione cele.

Bibliografia

Autorka w swojej pracy przytoczyła 97 publikacji, w tym 38 z okresu ostatnich 10 lat, włączając w to kilka prac poglądowych. Bibliografia jest uporządkowana, skonstruowana zgodnie z uznanymi zasadami. Do każdej pozycji piśmienniczej dodano identyfikator DOI. Literatura na temat związków polimorfizmów dotyczących genów różnych składowych układu peptydów natriuretycznych nie jest bardzo rozległa i Doktorantka właściwie zidentyfikowała i wykorzystała najistotniejsze opracowania.

Ograniczenia i niedostatki

Jedną z części pracy jest rozdział poświęcony ograniczeniom pracy. Autorka słusznie wskazuje małą liczbę włączonych chorych jako główne jej ograniczenie. Przyczyny tej słabej rekrutacji upatruje między innymi w trudnościach w uzyskaniu zgody od pacjentów.

Doktorantka słusznie dużo miejsca poświęca wskazaniu ograniczeń bioimpedancji, jednakże zdaje się nie mieć świadomości, że największe niebezpieczeństwo z zastosowania tej metody wynika z ograniczonej wiarygodności metody w określaniu segmentowego składa ciała, tj. w obrębie korpusu.

Z racji obowiązków recenzenta muszę wskazać także kilka innych ograniczeń i niedostatków. Zwraca uwagę zamienne używanie przez Doktorantkę pojęć „związek", „zależność" i „wpływ" – to ostatnie szczególnie nieuzasadnione z powodu przekrojowego charakteru prowadzonych badań.

W przypadku bardzo dobrze leczonych farmakologicznie i za pomocą urządzeń pacjentów, u których w chwili włączenia do badania średnia klasa NYHA oscyluje około II lub mniej, prawdopodobieństwo zdarzeń zdefiniowanych jako końcowe punkty obserwacji jest niskie. Zakładam, że przed rozpoczęciem badań Autorka szacowała liczebność grupy konieczną do wiarygodnej oceny różnic

w częstości zdefiniowanych punktów końcowych. W pracy nie znalazłem informacji na ten temat i trudno powiedzieć, na ile wielkość rekrutacji pozostała poniżej oczekiwań.

W pracy po wielokroć Autorka nazywa podgrupę chorych z BMI > 27 kg/m^2 pacjentami z otyłością. Nie jest to poprawne, ponieważ jedynie część tej podgrupy ma BMI upoważniające do takiego stwierdzenia .

Ocena ogólna

Pomimo wskazanych powyżej ograniczeń pracę uważam za wartościową. Doktorantka wykazała się dużą wiedzą, daleko wykraczającą poza ramy klinicznej kardiologii. I temu należy gorąco przyklasnąć. Widać wielką ambicję Autorki i wykonany ogrom pracy, który chwilami – trzeba to uczciwie przyznać - nieco Doktorantkę przetłoczył, owocując małą klarownością głównego przesłania pracy.

Moje uwagi krytyczne nie mogą przesłonić faktu, iż Autorka bezdyskusyjnie udokumentowała umiejętność formułowania problemu badawczego, dobrała – z pewnymi drobnymi błędami - metody jego analizy. Dowiodła w dyskusji umiejętności logicznego i analitycznego podejścia do problemu badawczego i w końcu przekonała, że potrafi wyciągać wnioski z uzyskanych wyników, a także identyfikować zasadnicze ograniczenia w ich interpretacji. W mojej ocenie praca w pełni spełnia zdefiniowane ustawowo kryteria stawiane przed doktorantami.

Dlatego też pozwalam sobie przedłożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie lek. med. Anny Furman-Niedziejko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

Dr hab. n. med. Piotr Rozentryt
Specjalista Chorób Wewnętrznych
Nefrolog, Kardiolog
2719752