Prof. dr hab. n. med. **Marianna Janion**
Collegium Medicum
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach,
II Klinika Kardiologii
Świętokrzyskie Centrum Kardiologii WSzZ w Kielcach

Kielce, 4. 02. 2021 r.

RECENZJA
rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. RAFAŁA HŁADIJA pt.: „Troponin and its association with risk factors for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy"

(„Troponina i jej powiązanie z czynnikami ryzyka nagłego zgonu w kardiomiopatii przerostowej")

Recenzję wykonano na podstawie umowy o dzieło z Uniwersytetem Jagiellońskim - Collegium Medicum w Krakowie **nr 503.11042. 209.2020** z dnia 18.12.2020 r.

1. UKŁAD PRACY

Przesłana przez Radę Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie do recenzji rozprawa na stopień doktora nauk medycznych **lek. Rafała HŁADIJA** pt.: **"Troponin and its association with risk factors for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy"** *(„Troponina i jej powiązanie z czynnikami ryzyka nagłego zgonu w kardiomiopatii przerostowej")* liczy 62 strony. Jej formą jest spójny tematycznie zbiór 3 artykułów opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych obecnych w bazie PubMed o łącznej punktacji **MNiSW = 75, IF = 7,259.** (punktacja MNiSW wg listy A z 2017 r.):

1. **Hładij R**, Rajtar-Salwa R, Dimitrow PP. ***Associaton of elevated troponin levels with increased heart rate and higher frequency of nonsustained ventricular tachycardia in hypertrophic cardiomyopathy.*** Pol Arch Intern Med. 2017 Jun 30;126(6):445-447. doi: 10.20452/pamw.4053. (MNiSW: 30, IF: 2,658)

2. **Hładij R**, Rajtar-Salwa R, Dimitrow PP. ***Troponin as ischemic biomarker is related with all three echocardiographic risk factors for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy.*** Cardiovasc Ultrasound. 2017 Sep 13;15(1):24. doi: 10.1186/s12947-017-0115-6. (MNiSW: 20, IF: 1,652)

3. Rajtar-Salwa R, **Hładij R,** Petkow-Dimitrow P. ***Elevated Level of Troponin but Not N-Terminal Probrain Natriuretic Peptide Is Associated with Increased Risk of Sudden Cardiac Death in Hypertrophic Cardiomyopathy Calculated According to the ESC Guidelines 2014*** Dis Markers. 2017;2017:9417908. doi: 10.1155/2017/9417908. **(** MNiSW: 25, IF: 2,849)

Rozprawa składa się z 11 rozdziałów. W części opisowej, na podstawie cytowanego piśmiennictwa, Doktorant analizuje podstawowe patomechanizmy niedokrwienia mięśnia sercowego oraz nieinwazyjne i inwazyjne metody oceny tego niedokrwienia u chorych z kardiomiopatią przerostową (HCM, *hypertrophic cardiomyopathy*), a także stratyfikację ryzyka nagłej śmierci sercowej wg kalkulatora ESC 2014 oraz metody leczenia tych chorych. Na tej podstawie przedstawia główne cele badania (rozdział 3). Zastosowaną metodykę badania oraz stosowane metody statystyczne przedstawił w rozdziale 4.

Rozprawa ma postać wydruku komputerowego na standardowo edytowanych stronach oraz zawiera odbitki kserograficzne 3 artykułów naukowych stanowiących zasadniczą część rozprawy, a także wnioski z uzyskanych wyników badań i podsumowanie rozprawy. W dysertacji zachowano stosowną proporcję objętości i treści w poszczególnych jej częściach. Wykaz cytowanego piśmiennictwa liczy 50 pozycji – wszystkie opublikowane w uznanych czasopismach zagranicznych, wydanych w większości w ciągu kilkunastu ostatnich lat. Układ pracy jest typowy dla tego charakteru opracowań. Do pracy na str. 63 i późniejszych załączono oświadczenia współautorów analizowanych publikacji, z których wynika wiodący i znaczący udział Doktoranta w ich opracowaniu.

2. TEMAT ROZPRAWY

Według definicji przyjętej praz Doktoranta kardiomiopatia przerostowa (HCM) to „obecność zwiększonej grubości ścian lewej komory (LV), która nie powstała na skutek zwiększonego obciążenia". Jest ona zgodna z aktualnie obowiązującymi w Europie wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) z 2014 roku gdzie HCM zdefiniowano jako „pogrubienie ściany lewej komory, które nie wynika jedynie z nieprawidłowych warunków obciążenia". HCM to postać pierwotnej kardiomiopatii charakteryzująca się przerostem mięśnia sercowego, do którego dochodzi w wyniku mutacji w genach kodujących białka sarkomeru. Istotną cechą charakteryzującą HCM jest bezładne ułożenie przerośniętych kardiomiocytów otaczających ogniska włóknienia, co w konsekwencji prowadzi do dysfunkcji rozkurczowej lewej komory, niedokrwienia mięśnia sercowego, a u części chorych (ok. 10%) do dysfunkcji skurczowej. Szacuje się, że HCM występuje od 200 do 2300 osób na 1 milion populacji osób dorosłych. W ponad połowie przypadków występuje rodzinnie, w pozostałych ma charakter sporadyczny. Istotnym problemem tych chorych

jest fakt, że HCM może być przyczyną nagłych zgonów sercowych (SCD, *sudden cardiac death*) u 5-30% chorych przed ukończeniem 50. roku życia. O złożoności tego problemu klinicznego świadczy:

- bezobjawowy przebieg kliniczny w którym pierwszą manifestacją kliniczną HCM może być nagłe zatrzymanie krążenia (NZK) w mechanizmie migotania komór,
- fakt, że wykorzystywany do stratyfikacji ryzyka 5-letniego nagłego zgonu sercowego przy użycia kalkulatora *(HCM Risk-SCD Calculator)* nie uwzględnia żadnych biomarkerów, których rola predykcyjna w chorobach układu sercowo-naczyniowego jest dobrze udokumentowana.

Aby ograniczyć najgroźniejsze skutki HCM jakim jest niewątpliwie SCD należy ciągle szukać najlepszych metod diagnostycznych, pozwalających na jak najwcześniejsze wykrycie choroby z możliwością optymalnej stratyfikacji ryzyka u tych chorych.

Biorąc pod uwagę znaną z piśmiennictwa zależność pomiędzy podwyższonym poziomem troponiny I a wzrostem występowania niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych, w tym NZK i SCD, Autor rozprawy założył, że jednym z rozwiązań pozwalających na wcześniejsze poszukiwanie mechanizmów prowokujących niedokrwienie mięśnia sercowego u pacjentów z HCM może być wykorzystanie do tego celu wysokoczułej troponiny I (hs-TnI). Uznał, że w tym celu przydatnym może być badanie korelacji pomiędzy poziomem hs-TnI a znanymi czynnikami ryzyka SCD w kardiomiopatii przerostowej. Wzrost poziomu troponin w surowicy krwi oznacza swoiste uszkodzenie komórek sercowych, a najnowsze generacje testów o bardzo dużej czułości pozwalają na wykrycie obecności nawet nieznacznej martwicy mięśnia sercowego.

Obiecujące jest również wykorzystanie u pacjentów z HCM prognostycznego znaczenia zwiększonego poziomu peptydów natriuretycznych (NT-proBNP) w szybkim diagnozowaniu istotnych schorzeń serca. Wynika to z bardzo wczesnej aktywacji i rozregulowania układu peptydów już na samym początku rozwoju choroby, wyprzedzającym niejednokrotnie inne objawy niewydolności serca. W tym celu Doktorant porównał skalkulowane 5-letnie ryzyko SCD w odniesieniu do poziomu troponiny (hs-TnI) i do poziomu NT-proBNP i chciał odpowiedzieć na pytanie - czy te biomarkery korelują z ryzykiem SCD i czy któryś z spośród nich ma większą wartość predykcyjną ?.

Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzenia uważam, że temat rozprawy: „Troponina i jej powiązanie z czynnikami ryzyka nagłego zgonu w kardiomiopatii przerostowej" jest oryginalny, a wybór tematu jest istotny dla obszaru nauk medycznych oraz wpisuje się w obszar interdyscyplinarny szeroko rozumianej kardiologii. Podjęcie tego tematu przez Doktoranta jest cennym i ważnym uzupełnieniem dotychczasowego stanu badań, a uzyskane wyniki mogą być przydatne jako istotny element uściślający możliwie wczesną stratyfikację ryzyka SCD u chorych z HCM.

3. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY

Doktorant określił główny cel badania jako „poszukiwanie mechanizmów prowokujących niedokrwienie mięśnia sercowego" w analizowanych grupach chorych z kardiomiopatią przerostową i sformułował 5 celów szczegółowych:

1. Ocenę korelacji markerów niedokrwienia mięśnia sercowego (troponiny hs-TnI) względem badania EKG metodą Holtera - ocena tachykardii – kalkulacja całodobowego tętna średniego i maksymalnego.
2. Ocenę korelacji markerów niedokrwienia mięśnia sercowego (troponiny hs-TnI) względem badania echokardiograficznego, w którym zaplanowano ocenę proischemicznych parametrów takich jak: gradient podzastawkowy i po próbie prowokacyjnej oraz ocena wielkości i rozległości przerostu mięśnia sercowego
3. Weryfikacją farmakoterapii redukującej podwyższone wartości tętna serca oraz gradientu podzastawkowego.
4. Porównanie skalkulowanego 5-letniego ryzyka zgonu pomiędzy podgrupami pacjentów z wartością troponiny (hs-TnI) powyżej 99 percentyla dla populacji bez niedokrwienia mięśnia sercowego (wynik dodatni) oraz pacjentów z troponiną poniżej 99 percentyla (wynik ujemny prawidłowy).
5. Porównanie skalkulowanego 5-letniego ryzyka SCD w odniesieniu do poziomu troponiny (hs-TnI) i do poziomu NT-proBNP - czy biomarkery korelują z ryzykiem SCD i czy któryś z spośród nich ma większą wartość.

W oparciu o dokonaną przez Autora ocenę stanu wiedzy o patomechanizmach niedokrwienia mięśnia sercowego w HCM, inwazyjnych i nieinwazyjnych metodach

oceny tego niedokrwienia oraz stratyfikacji ryzyka SCD przyjęte główne cele rozprawy są ściśle związane z podjętym tematem rozprawy.

4. MATERIAŁ I METODY

4a. Materiał i metody

W badaniach analizowano dane 32, 51 i 46 chorych z HCM. Były to grupy dorosłych, stosunkowo młode wiekiem (średnia 39-40 lat SD ±8-11). Uczestniczyło w nich odpowiednio 37,5%, 41,2% i 48% kobiet. Wyniki do badań zbierano podczas 2 kolejnych wizyt pacjentów z rozpoznaną HCM w poradni kardiologicznej. Badane i analizowane parametry, zastosowane metody pomiarowe, kryteria włączenia i wyłączenia przedstawiono dokładnie w każdej z 3 publikacji.

4.b. Metody statystyczne

Do opracowania wyników wykorzystano uznane metody i algorytmy statystyczne. W każdej z 3 załączonych publikacji przedstawiono szczegółowo zastosowane metody analizy i wnioskowania statystycznego. Obliczenia i analizy wykonane zostały z wykorzystaniem pakietu STATISTICA wersji 12 lub nowszej. Poziom istotności statystycznej ustalono na $p \leq 0,05$.

Stwierdzam, że zastosowana metodyka badań jak i wybrane metody statystyczne są poprawne. Są powszechnie stosowane w tego typu badaniach i pozwalają na weryfikację poziomu istotności najważniejszych postulowanych celów rozprawy.

5. WYNIKI

Wyniki przeprowadzonych badań Doktorant przedstawił szczegółowo w każdej, z dołączonych do rozprawy publikacji. Udało mu się ustalić szereg istotnych powiązań pomiędzy podwyższonym poziomem troponiny I a czynnikami potencjalnie wpływającymi na zwiększone ryzyko nagłego zgonu u chorych z kardiomiopatią przerostową i wykluczoną chorobą niedokrwienną mięśnia serca w zakresie naczyń nasierdziowych. W badaniach Autora wykazano, że potencjalne mechanizmy prowokujące niedokrwienie mięśnia sercowego u chorych z kardiomiopatią przerostową mogą być związane z tachykardią spontaniczną lub wywołaną wysiłkiem jak również możliwy jest związek przyczynowy niedokrwienia mięśnia sercowego z występującymi nsVT.

W 1. publikacji: *"Associaton of elevated troponin levels with increased heart rate and higher frequency of nonsustained ventricular tachycardia in hypertrophic cardiomyopathy"* znaleziono zależność pomiędzy podwyższonym poziomem troponiny a zwiększoną częstością rytmu serca i większą częstością nieutrwalonego częstoskurczu komorowego (nsVT) w kardiomiopatii przerostowej. Podwyższony poziom hs-TnI korelował dodatnio ze zwiększonym tętnem, a zwłaszcza z tętnem maksymalnym (wynik badania metodą Holtera) oraz z epizodami nsVT, które stwierdzono aż u 75% w grupie chorych troponino-dodatnich.

Zdaniem Autora dalszych badań wymaga ocena protekcyjnej roli betaadrenolityków w grupie chorych z HCM i podwyższonym poziomem troponin.

W 2. publikacji *„Troponin as ischemic biomarker is related with all three echocardiographic risk factors for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy"* udowodniono, że w grupie chorych z HCM podwyższony poziom troponiny hs-TnI jest istotnym statystycznie biomarkerem niedokrwienia mięśnia sercowego, a jej wysoki poziom jest związany z trzema echokardiograficznymi czynnikami ryzyka nagłej śmierci takimi jak: gradient z drogi odpływu lewej komory zarówno spoczynkowy jak i prowokowalny, średnica lewego przedsionka, maksymalna grubość ścian lewej komory (LV). Zdaniem Autora znalezione zależności mogą mieć duże znaczenie praktyczne. Postuluje wykonywanie testu wysiłkowego u każdego chorego z HCM i oznaczenie poziomu hs-TnI po 8-12 godzinach po tym teście aby zidentyfikować chorych szczególnie zagrożonych SCD.

W 3. publikacji *„Elevated Level of Troponin but Not N-Terminal Probrain Natriuretic Peptide Is Associated with Increased Risk of Sudden Cardiac Death in Hypertrophic Cardiomyopathy Calculated According to the ESC Guidelines 2014"* wykazano, że podwyższony poziom troponiny I jest związany ze zwiększonym ryzykiem nagłej śmierci sercowej w kardiomiopatii przerostowej, oszacowanej zgodnie z zalecanym kalkulatorem SCD wg wytycznych ESC z 2014 r., brak jest natomiast istotnej statystycznie korelacji pomiędzy poziomem NT-proBNP a tym ryzykiem.

Wszystkie prezentowane w rozprawie wyniki, są potwierdzone dokładną oceną znamienności statystycznej, co pozwala przyjąć, że można uznać je za wiarygodne i nie budzące zastrzeżeń.

Uważam, że uzyskane wyniki są oryginalne i mają wartość naukową, a dyskusja wyników jest merytoryczna i rzeczowa. Świadczy to o głębokim przyswojeniu wiedzy z tego zakresu i umiejętności analitycznego rozumowania. Doktorant, posługując się nowoczesnymi technikami badawczymi, wykorzystując współczesne metody statystyczne, poprawne i logiczne wnioskowanie, skutecznie zrealizował cele postawione na początku pracy.

6. PODSUMOWANIE

Doktorant Rafał Hładij wykazał się umiejętnością właściwego wyboru tematyki badań, doboru piśmiennictwa oraz prawidłowego wykorzystania dostępnych źródeł. W każdej z 3 analizowanych publikacji - lek. Rafał Hładij w sposób dogłębny zawarł ocenę stanu badań w zakresie głównej tematyki rozprawy. Wykonał własne badania przeprowadzone w grupie chorych z HCM. Uzyskał ciekawe i oryginalne wyniki. Przeprowadził krytyczną dyskusję na temat uzyskanych wyników. Porównał otrzymane wyniki własne z cytowanymi wynikami innych badaczy na podstawie przytoczonego piśmiennictwa. Skutecznie zrealizował postawione cele rozprawy.

Osiągnięcia Autora w sposób znaczący uzupełniają istniejący stan wiedzy i są w wielu punktach oryginalne.

7. OGRANICZENIA ROZPRAWY

Autor w rozprawie przedstawił ograniczenia, które dotyczą głównie faktu zbierania danych do analizy podczas 2 kolejnych wizyt pacjentów z rozpoznaną HCM w poradni kardiologicznej. Jak podkreśla optymalny profil pomiaru troponin, echo co 8 godzin i badanie EKG metodą Holtera przez 2 doby wymagają warunków szpitalnych i byłyby bardziej kosztowne. Natomiast korzyścią z badań ambulatoryjnych, jak podkreśla Doktorant, jest możliwość oceny stanu pacjentów w trakcie ich codziennej aktywności fizycznej.

Przedstawione przez Autora ograniczenia rozprawy świadczą o dojrzałości naukowej Doktoranta.

8. WNIOSKI ROZPRAWY

Autor przedstawił 5 wniosków wypływających z rozprawy (rozdział 7, str.38). Są one logiczne i oparte na uzyskanych wynikach, odnoszą się do najważnieszych rezultatów przeprowadzonych badań. Co ważne, wnioski z rozprawy i dalsze prace dotyczące roli biomarkerów w stratyfikacji ryzyka chorych z HCM mogą zmodyfikować

obowiązujący kalkulator ryzyka w tej grupie chorych (*HCM Risk-SCD Calculator*). Uważam, że wyniki prac Autora są ważnymi przesłankami dla praktyki klinicznej.

9. OCENA ROZPRAWY

Rozprawa jest napisana niezwykle zwięźle, ściśle dotyczy tematu rozprawy oraz metod i wyników badań. Za szczególnie cenny uznaję fakt, że badania były prowadzone wśród dorosłych, w wieku poniżej 50 lat (średnia 39-40 lat SD±8-11), a jak wiadomo w tej grupie wiekowej, u pacjentów z kardiomiopatią przerostową, SCD może być przyczyną nagłych zgonów aż u 5-30% chorych.

Otrzymane wyniki i wnioski mają znaczenie zarówno dla nauki jak i dla praktyki. Rozprawa jest opublikowana w uznanych i recenzowanych czasopismach medycznych co dodatkowo świadczy o jej oryginalności, ważności i przydatności dla dalszych badań i praktyki lekarskiej.

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych **lek. Rafała HŁADIJA** pt.: **"Troponin and its associaton with risk factors for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy"** *(„Troponina i jej powiązanie z czynnikami ryzyka nagłego zgonu w kardiomiopatii przerostowej")* dotyczy oryginalnego problemu badawczego, rozstrzygnięcie którego stanowi przyczynek do lepszej niż dotychczas oceny stanu chorych z kardiomiopatią przerostową. Oceniam, że jest to praca na wysokim poziomie naukowym i merytorycznym.

Rozprawa doktorska lek. Rafała Hładija spełnia wymagania wyszczególnione w art. 13 ust.1 „Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki" (Dz U. Nr 65 poz.595 z późniejszymi zmianami) i może być skierowana do publicznej obrony.

Mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego i Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie lek. Rafała Hładija do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Marianna Janion