



NARODOWY INSTYTUT KARDIOLOGII
Stefana kardynała Wyszyńskiego
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY

ul. Alpejska 42
04-628 Warszawa (Anin)
www.ikard.pl

Centrum Telekardiologii
Dr hab. n. med. Ewa Piotrowicz
Kierownik Centrum
tel. :+48 22 343 46 64,
e-mail: e.piotrowicz@ikard.pl

Warszawa, 20.09.2023

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Anny Kurpas

pt.

**„Wartość diagnostyczna stężenia czynnika wzrostu fibroblastów
FGF23 w ocenie powikłań sercowo-naczyniowych u chorych
z wieloletnią cukrzycą typu 2”**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Marzenna Zielińska

**Katedra Kardiologii Interwencyjnej i Elektrokardiografii, Klinika
Kardiologii Interwencyjnej, Centralny Szpital Kliniczny
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi; Poradnia Nowa w Łodzi**

Wprowadzenie do recenzji

Rozwój cywilizacji poza wieloma zaletami powoduje niestety wzrost zachorowalności między innymi na choroby układu krążenia i cukrzycę typu 2. Często pierwszy okres choroby przebiega skąpoobjawowo i opóźnia postawienie rozpoznania co skutkuje wystąpieniem powikłań o charakterze mikro

i makroangiopatii. Według danych z Framingham Heart Study wśród chorych na cukrzycę typu 2 częstość występowania choroby wieńcowej była dwukrotnie większa u mężczyzn i prawie trzykrotnie większa u kobiet w porównaniu z osobami bez cukrzycy. W kontekście tych danych niezwykle ważne byłoby znalezienie wskaźnika predykcyjnego dla wstąpienia powikłań sercowo-naczyniowych w populacji chorych na cukrzycę typu 2. Pomimo, że w dostępnej literaturze podjęto liczne próby odpowiedzi na to pytanie, jednak jak dotąd temat jest przedmiotem analiz i dyskusji. Jednym z badanych parametrów jest czynnik wzrostu fibroblastów 23 (FGF23). Według opublikowanych danych podwyższony poziom FGF23 jest niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych z przewlekłą chorobą nerek oraz przewlekłą niewydolnością serca. Istnieją również doniesienia wskazujące na korelację podwyższonych wartości FGF23 ze zwiększonym ryzykiem występowania zdarzeń sercowo-naczyniowych w populacji chorych na cukrzycę. Jednak pomimo rozwoju kardiodiabetologii nie ma jednolitego stanowiska na temat przydatności FGF23 w aspekcie przewidywania ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na cukrzycę typu 2.

Kolejnym zagadnieniem jest rozwój technik obrazowych przydatnych we wczesnej diagnostyce zaburzeń kurczliwości serca u pacjentów z podwyższonym ryzykiem powikłań sercowo-naczyniowych. Technika śledzenia markerów akustycznych wykorzystująca echokardiografię dwuwymiarową umożliwia pomiar odkształcenia miokardium (ang. strain) w trzech kierunkach przestrzennych (odkształcenie podłużne, okrężne i poprzeczne). Ponadto można dość precyzyjnie analizować czy uszkodzenie dotyczy warstwy endokardium, miokardium czy epikardium. Zatem technika ta może okazać się przydatna we wczesnej diagnostyce zaburzeń kurczliwości serca u chorych z cukrzycą typu 2 i wysokim ryzykiem wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych. Aktualnie nie ma zdefiniowanego zakresu tej techniki w aspekcie użyteczności klinicznej w tej populacji chorych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Anny Kurpas dotyczy zatem tematu jak najbardziej aktualnego i odnosi się do nowatorskiego zagadnienia diagnostyki i wczesnego przewidywania powikłań sercowo-naczyniowych u chorych z cukrzycą typu 2 będących w kręgu zainteresowań współczesnych badaczy. Podjęty przez Doktorantkę temat jest niezwykle istotny gdyż zarówno cukrzyca typu 2

jak i choroby układu krążenia stanowią istotny problem medyczny, społeczny i ekonomiczny we współczesnym świecie.

Omówienie rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska opiera się na trzech ściśle powiązanych tematycznie publikacjach: dwóch oryginalnych i jednej poglądowej, które ukazały się w renomowanych, impaktowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym:

1. Kurpas A, Supel K, Idzikowska K, Zielinska M. *FGF23: A Review of Its Role in Mineral Metabolism and Renal and Cardiovascular Disease. Dis Markers.* 2021;2021:8821292. Published 2021 May 17. doi:10.1155/2021/8821292; (IF 3.464; MEiN 70)
2. Kurpas A, Supel K, Wieczorkiewicz P, Bodalska Duleba J, Zielinska M. *Fibroblast Growth Factor 23 and Cardiovascular Risk in Diabetes Patients- Cardiologists Be Aware. Metabolites.* 2022; 12(6):498
<https://doi.org/10.3390/metabo12060498> (IF 5.581; MEiN 100)
3. Kurpas A, Supel K, Wieczorkiewicz P, Bodalska Duleba J, Zielinska M. *Fibroblast Growth Factor 23: Potential Marker of Invisible Heart Damage in Diabetic Population. Biomedicines.* 2023; 11(6):1523
<https://doi.org/10.3390/biomedicines11061523> (IF 4.757; MEiN 100)

Łączna punktacja cyklu prac to IF - 13.802; MEiN - 270 punktów

Warto podkreślić, że Doktorantka jest pierwszą Autorką wszystkich artykułów co jednoznacznie wskazuje na Jej wiodący wkład w ich powstanie.

Rozprawa ma układ typowy, dla pracy opartej na opublikowanych artykułach.

Tytuł pracy jest zgodny z treścią rozprawy.

Wstęp stanowi bardzo dobre wprowadzenie do poruszanych w kolejnych publikacjach zagadnień. Doktorantka przeanalizowała istotne dla podjętego tematu zagadnienia w stosownie zredagowanych podrozdziałach:

1. Cukrzyca i jej wpływ na rozwój chorób sercowo-naczyniowych
2. Rola FGF23 w organizmie człowieka
3. Fizjologia mechaniki skurczu i rozkurczu lewej komory
4. Echokardiograficzna technika śledzenia markerów akustycznych 2D.

Autorka trafnie podsumowała obecny stan wiedzy w omawianym temacie, zdefiniowała hipotezę, na której oparto koncepcję kolejnych publikacji i uzasadniła podjęcie określonych w celach pracy szczegółowych kierunków badań.

Cele pracy doktorskiej powiązane są z celami trzech publikacji wchodzących w skład cyklu i obejmują:

1. Analizę stężenia FGF23 u chorych z wieloletnią, dobrze wyrównaną cukrzycą typu 2 w aspekcie leczenia hipoglikemizującego i występowania innych chorób towarzyszących.
2. Ocenę funkcji mięśnia sercowego metodą klasycznej echokardiografii 2D w połączeniu z badaniem dopplerowskim u chorych z wieloletnią cukrzycą typu 2 bez przebytego zawału mięśnia sercowego.
3. Ocenę funkcji miokardium, z uwzględnieniem jego podziału na warstwy, za pomocą techniki śledzenia markerów akustycznych 2D, u chorych z wieloletnią cukrzycą typu 2 bez przebytego zawału mięśnia sercowego.
4. Ocenę roli FGF23 w powstawaniu dysfunkcji skurczowo-rozkurczowej lewej komory serca u chorych z wieloletnią, dobrze wyrównaną cukrzycą typu 2.

Omówienie poszczególnych publikacji ujętych w cykl prac

Pierwsza praca pt. „FGF23: A Review of Its Role in Mineral Metabolism and Renal and Cardiovascular Disease” stanowi obszerny i wnikliwy przegląd wiedzy na temat roli FGF23. Doktorantka opisała szczegółowo mechanizm działania FGF23, metody jego pomiaru, choroby związane z podwyższonym poziomem FGF23 oraz potencjał terapeutyczny FGF23. W sposób bardzo kompetentny opisała rolę FGF23 w metabolizmie wapniowo-fosforanowym i szlakach sygnalizacji między organami. Przedstawiając wiele dowodów z piśmiennictwa wskazała na fakt, że FGF23 może być czynnikiem patofizjologicznym wielu chorób a jego podwyższony poziom związany jest z szybszą progresją przewlekłej choroby nerek, przerostu mięśnia sercowego i zwiększoną śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych. Niemniej jednak wpływ FGF23 na schorzenia sercowo-naczyniowe nie został w pełni wyjaśniony. Konieczne są dalsze badania nad podstawowymi mechanizmami

patofizjologicznymi, w których udział bierze FGF23 zwłaszcza w nefrologii i kardiologii.

W przedstawionej pracy poglądowej Doktorantka wykazała się szeroką znajomością tematu i wyczerpująco przedstawiła rolę FGF23 zarówno w mechanizmach fizjologicznych jak i patofizjologicznych wielu chorób. Zwróciła również uwagę, że zastosowanie FGF23 w praktyce klinicznej w celu diagnostycznym bądź terapeutycznym wymaga dalszych badań.

Druga praca pt. „Fibroblast Growth Factor 23 and Cardiovascular Risk in Diabetes Patients-Cardiologists Be Aware” miała na celu odpowiedź na pytanie czy określone wartości FGF23 można uznać za potencjalny czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie osób z wieloletnią cukrzycą typu 2. Grupa badana składała się ze 102 pacjentów z cukrzycą typu 2 trwającą średnio 19 lat, którzy objęci byli stałą opieką jednego diabetologa. Pacjenci w zależności od obecności lub braku choroby wieńcowej przydzieleni byli do grupy non-IHD (bez choroby niedokrwiennej serca) liczącej 68 chorych i grupy IHD (z chorobą niedokrwinną serca) liczącej 34 chorych. Kryteria włączenia zakładały m.in. dobre wyrównanie cukrzycy mierzone hemoglobiną glikowaną (HbA1c $\leq 8\%$) i czas trwania cukrzycy > 10 lat.

Przyjęte przez Doktorantkę kryteria włączenia i wyłączenia jak również opisana metodyka pracy nie budzą zastrzeżeń.

Wykorzystane w pracy metody analizy statystycznej są prawidłowo dobrane. Zastosowanie tych metod pozwoliło na uzyskanie wyników, które Doktorantka przedstawiła w sposób przejrzysty i szczegółowy w odnośnym rozdziale uwzględniając imponującą liczbę analiz ujętych w czterech tabelach i sześciu rycinach.

Zdefiniowane grupy różniły się w analizie wstępnej pod względem płci, częstości występowania nadciśnienia tętniczego, poziomu kreatyniny, eGFR, i HDL-C. W badanej populacji średnia wartość HbA1c wynosiła 6.85%, szacowana eGFR (ang. glomerular filtration rate) 80 mL/min/1.73m² i średnia LVEF (ang. left ventricular ejection fraction) 56% wskazując na zadowalające wyrównanie cukrzycy, prawidłową funkcję nerek i zachowaną funkcję skurczową lewej komory. Odnotowano natomiast podwyższony poziom FGF23 (253 pg/mL IQR 218.0-531.0). Jednak nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupami w aspekcie stężenia FGF23. Dodatkowo, nie stwierdzono korelacji pomiędzy FGF23 a HbA1c,

eGFR, LVEF, LVMI (ang. left ventricular mass index) ani poziomami glikemii oznaczonymi na czczo i po posiłkach.

W obszernej dyskusji Doktorantka wnikliwie przeanalizowała uzyskane wyniki w świetle dostępnej literatury (56 pozycji piśmiennictwa). Wykazała się głęboką znajomością tematu i zdolnością krytycznej oceny wartości własnych wyników w kontekście już opublikowanych danych.

Pozwoliło to na sformułowanie stwierdzenia, że FGF23 nie spełnia kryteriów niezależnego czynnika ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie chorych na cukrzycę typu 2, niezależnie od współistnienia choroby wieńcowej.

Do publikacji drugiej mam następującą uwagę odnoszącą się do niestandardowego układu poszczególnych sekcji artykułu. Usytuowanie sekcji „5. Materials and Methods” pod koniec artykułu po sekcjach „2. Results”, „3. Discussion” i „4. Study Limitations” nie jest ułatwieniem dla czytelnika ale jak sądzę wynika z reguł edytorskich czasopisma.

Druga uwaga odnosi się do opisu wyników z Tabeli 3.

W Tabeli 3 wartość TAPSE w grupie without IHD wynosi 22 (20-25)mm, a w grupie with IHD 20(18-23)mm. Parametr ten jest zatem niższy w grupie with IHD niż w grupie without IHD. W tekście natomiast opis brzmi „As shown in Table 3, patients with overt IHD had higher values of the following parameters: left ventricular end systolic volume (LVESV) ($p=0.007$)....., and tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) ($p=0.008$).”

Dodatkowo sugerowałabym stosowanie dla każdej z grup jednego nazewnictwa zarówno w tekście jak i w tabelach. W artykule ta sama grupa definiowana jest jako „Group 1”, „non-IHD group”, „without IHD”.

W trzeciej pracy pt. „Fibroblast Growth Factor 23: Potential Marker of Invisible Heart Damage in Diabetic Population” Doktorantka kontynuowała podjęty temat w populacji chorych na cukrzycę typu 2 oceniając rolę FGF23 jako potencjalnego markera uszkodzenia mięśnia sercowego w odniesieniu do pomiaru odkształcenia miokardium GLS (ang. global longitudinal strain) i GCS (ang. global circumferential strain) w badaniu echokardiograficznym.

Analizą objęto 71 pacjentów z wieloletnią cukrzycą typu 2 (19 lat IQR 13.0-24.0), prawidłową funkcją nerek (eGFR 88 mL/min/1.73m²), dobrze kontrolowaną glikemią (HbA1c 6.8% IQR 6.4-7.4) i podwyższonym stężeniem FGF23 (256 pg/mL IQR

214.0-567.0), bez przebytego zawału mięśnia sercowego. Chorych podzielono na dwie grupy w zależności od zachowanej (n=46) lub upośledzonej (n=25) funkcji rozkurczowej lewej komory serca.

Przyjęte przez Doktorantkę kryteria włączenia i wyłączenia oraz metodyka pracy nie budzą zastrzeżeń.

Zastosowane w pracy metody analizy statystycznej są odpowiednio dobrane i pozwoliły na uzyskanie rzetelnych wyników. Doktorantka przedstawiła rezultaty w optymalny sposób w odnośnym rozdziale prezentując je także na sześciu rycinach i w czterech tabelach co znacznie podnosi walory pracy.

Należy podkreślić, że zarówno w publikacji drugiej jak i trzeciej umieszczono precyzyjne schematy przebiegu badania w kontekście kwalifikacji pacjentów tzw. *flow charts*.

W ramach przeprowadzonej analizy wykazano, że chorzy z dysfunkcją rozkurczową lewej komory mieli istotnie niższy poziom eGFR i wyższe stężenie HbA1c i kreatyniny. Z parametrów oceniających odkształcenie mięśnia sercowego, w większości przypadków obserwowano istotne obniżenie GCS. Interesującym jest fakt, że uszkodzenie miokardium u chorych na cukrzycę typu 2 zaczyna się od epikardium (odwrotnie niż w kardiomiopatii niedokrwiennej). Dodatkowo stwierdzono pozytywną korelację między wartością epikardialnego GCS a stężeniem FGF23. Przedstawione wyniki wskazują na użyteczność oceny odkształcenia mięśnia sercowego we wczesnym wykrywaniu nawet niewielkiego uszkodzenia miokardium. Mogą zatem stać się przesłanką, aby w przyszłości FGF23 mógł być uznany za marker diagnostyczny wczesnego uszkodzenia mięśnia sercowego u pacjentów z wieloletnią cukrzycą typu 2.

W bardzo dobrze poprowadzonej dyskusji Doktorantka szczegółowo przeanalizowała i porównała uzyskane wyniki z danymi z piśmiennictwa (66 pozycji). Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością zagadnień i zdolnością krytycznej analizy własnych rezultatów w kontekście dostępnej literatury co jest dowodem szerokiej wiedzy w obszarze tematycznym rozprawy.

O dojrzałości badawczej Autorki świadczy również umieszczenie w drugiej i trzeciej publikacji sekcji „Study Limitation”, w których Doktorantka między innymi odniosła się do wielkości badanej populacji, technicznych problemów związanych z oznaczaniem stężenia FGF23 i zakresu jego wartości referencyjnych.

Wnioski

Doktorantka zakończyła dysertację następującymi wnioskami, które są wynikiem przeprowadzonych analiz w omawianych pracach

1. U chorych z wieloletnią, dobrze wyrównaną cukrzycą typu 2 stężenie FGF23 jest istotnie podwyższone niezależnie od funkcji nerek i rodzaju leczenia hipoglikemizującego.
2. Rozwój choroby wieńcowej u chorych z wieloletnią, dobrze wyrównaną cukrzycą typu 2 jest niezależny od stężenia FGF23.
3. U części chorych z wieloletnią, dobrze wyrównaną cukrzycą typu 2 bez przebytego zawału mięśnia sercowego funkcja skurczowo-rozkurczowa lewej komory, oceniana klasyczną echokardiografią 2D w połączeniu z badaniem dopplerowskim, pozostaje prawidłowa.
4. Rozwój dysfunkcji rozkurczowej u chorych z wieloletnią, dobrze wyrównaną cukrzycą typu 2 jest niezależny od stężenia FGF23.
5. Ocena odkształcenia miokardium metodą śledzenia markerów akustycznych 2D pozwala na wczesne wykrycie uszkodzenia mięśnia sercowego u chorych z wieloletnią, dobrze wyrównaną cukrzycą typu 2 i prawidłową funkcją lewej komory w echokardiogramie 2D.
6. Uszkodzenie mięśnia sercowego u chorych z wieloletnią cukrzycą typu 2 zaczyna się od jego warstwy epikardialnej.
7. FGF23 może odgrywać rolę w inicjowaniu uszkodzenia miokardium u chorych z wieloletnią cukrzycą typu 2. Obserwacja ta wymaga dalszych badań.

Powyższe wnioski są zasadne, rzeczowe, wynikają z uzyskanych wyników i odpowiadają postawionym celom badawczym. Dysertacja stanowi cykl trzech prac stanowiących logiczną całość i źródło cennych, unikalnych informacji o badanych zjawiskach, czego najlepszym dowodem jest ich opublikowanie w recenzowanych czasopismach z wysokimi wskaźnikami wpływu co pozwala na obiektywne uznanie zrealizowania celów jakie postawiła sobie Doktorantka. Nie mam istotnych uwag co do przedstawionej mi dysertacji.

Pytania i uwagi

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską lek. Anny Kurpas nasuwają mi się następujące pytania, wynikające przede wszystkim z zainteresowania podjętym tematem:

1. Dane z literatury wskazują na możliwość oznaczania dwóch form FGF23: intact FGF23 (iFGF23) i C-terminal FGF23 (cFGF23). Dodatkowo cFGF23 uważany jest za bardzo dobry wskaźnik progresji miażdżycy u pacjentów ze schorzeniami sercowo-naczyniowymi jak również może mieć znaczenie rokownicze. Do analiz w pracy 2 i 3 wybrano jednak iFGF23. Jakie przesłanki zaważyły na tym wyborze?
2. Wiele zjawisk może wpływać na stężenie FGF23. Czy równoczesne oznaczenie innych parametrów np. wskaźników prozapalnych i gospodarki żelaza ułatwiłoby interpretację wyników FGF23?
3. W drugiej publikacji w grupie chorych without IHD u 10% pacjentów stwierdzono retinopatię a u 7% neuropatię, są to powikłania mikroangiopatyczne i często współistnieją ze zmianami w obrębie drobnych (o średnicy poniżej 100 nm) naczyń krwionośnych nerek i serca. Zważywszy, że istotnym problemem w diagnostyce choroby niedokrwiennej serca w przebiegu cukrzycy jest neuropatia czuciowa, z powodu której część pacjentów nie odczuwa typowych dolegliwości stenokardialnych czy u wyżej wymienionych pacjentów poszerzano diagnostykę np. poprzez wykonanie badania SPECT w celu obrazowania perfuzji serca tak aby precyzyjnie potwierdzić lub wykluczyć chorych z IHD?

Podsumowanie recenzji

Przedstawiona mi do recenzji praca stanowi oryginalne i wartościowe dokonanie Doktorantki oraz świadczy o bardzo dobrym opanowaniu warsztatu pracy naukowej jak i wyborze tematyki. Praca badawcza wnosi nowe poznawcze i praktyczne przesłanki kliniczne. Rozprawa przygotowana jest starannie, temat, który podjęła Doktorantka w swojej dysertacji jest szczególnie interesujący i na czasie wobec nowych możliwości diagnostyki laboratoryjnej i obrazowej w ocenie powikłań sercowo-naczyniowych u chorych z wieloletnią cukrzycą typu 2. Wyniki badań

doprowadziły do sformułowania wniosków zgodnych z celami pracy i będących istotnym przyczynkiem do wzbogacenia aktualnej wiedzy na ten temat.

Należy podkreślić, że powyższa dysertacja powstała na podstawie cyklu monotematycznych artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych o wysokim wskaźniku wpływu IF - 13,802 i wysokiej punktacji MEiN - 270.

Wnioski końcowe

Rozprawę doktorską lek. Anny Kurpas oceniam bardzo pozytywnie. Doktorantka wykazała przygotowanie do planowanych badań naukowych, analizy ich wyników i właściwego wnioskowania. Otrzymane wyniki mają unikalną wartość naukową i kliniczną.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa lek. Anny Kurpas spełnia warunki stawiane pracom naukowym na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu określone w art.187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018r. poz 1668 z późn.zm.).

Niniejszym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. Anny Kurpas do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie uwzględniając wysoką wartość kliniczną cyklu prac i rozprawy, jak również ich dojrzałość naukową, wnioskuję o nagrodzenie rozprawy wyróżnieniem.

Dr hab. n. med. Ewa Piotrowicz


Dr hab. n. med. Ewa Piotrowicz
KARDIOLOG
SPECJALISTA CHOROBY WEWNĘTRZNEJ
1368365