

Univerzita P.J. Šafárika, Lekárska fakulta, Klinika angiológie, Východoslovenský ústav
srdcových a cievnych chorôb, Ondavská 8, 040 11 Košice

Spectabilis

Prof. MUDr. Juraj Šteňo, DrSc., IFAANS

Dekanát

Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta

Špitálska ul. 24, 813 72 Bratislava

Vec: Oponentský posudok habilitačnej práce MUDr. Mareka Kučeru, PhD., MPH, MHA, odborného asistenta na I. internej klinike LF UK a UNB v Bratislave, na tému „Význam vybraných hematologických parametrov v kontexte dyslipidémii a hodnotení kardiovaskulárneho rizika“

Habilitačná práca sa venuje veľmi aktuálnemu problému, kardiovaskulárnemu (KV) riziku, jeho stratifikácii a reziduálnemu makrovaskulárnemu riziku. Analyzuje možnosti zlepšenia predikcie rizika hodnotením aterogenity plazmy a vyšetrením inovatívnych hematologických biomarkerov. Súčasťou habilitačnej práce je aj vlastná klinická štúdia, ktorá prináša originálne výsledky. Práca vznikla na významnom klinickom pracovisku, s dlhoročnou tradíciou v oblasti výskumu KV ochorení, bola podnietená vedeckou aktivitou prof. Stanislava Oravca, CSc. a podporená víziami prof. MUDr. Viery Štvrtinovej, CSc.

Formálna stránka

Habilitačná práca je napísaná na 120 stranách textu. **Členenie práce** zodpovedá požadovaným kritériám a zahŕňa úvod, 3 hlavné teoretické kapitoly, ciele habilitačnej práce a vlastnú klinickú štúdiu s charakteristikou súboru, metód skúmania, vrátane štatistickej analýzy, s prezentáciou vlastných výsledkov, diskusiou, uvedením limitácií štúdie a záverom. **Rozsiahly zoznam použitej literatúry** obsahuje 295 citácií, ktoré sú uvedené správne a jednotne, zastúpená je renomovaná domáca aj zahraničná literatúra. **Prehľadnosť** práce zvyšuje 25 obrázkov a 33 tabuliek. Skratky sú vysvetlené v zozname použitých skratiek. **Štýl autora je jasný a presný.**

Odborná stránka

Teoretická časť začína **úvodom** do komplexnej problematiky KV prevencie, kde kľúčové miesto má hodnotenie individuálneho KV rizika a následný optimálny manažment pacienta. **1. kapitola** je venovaná hodnoteniu KV rizika. Jedným z najpoužívanejších nástrojov na stratifikáciu KV rizika v klinickej praxi je skórovací systém SCORE, ktorý sa používa v primárnej prevencii hlavne v krajinách Európy a bol odporúčaný aj ESC v r. 2016. Autor popisuje praktické aspekty použitia tabuliek SCORE pri systematickom hodnotení KV rizika. Opierajúc sa o robustné medzinárodné klinické dáta vyzdvihuje limitácie systémového skórovania rizika a definuje fatálne, celkové, relatívne a reziduálne KV riziko. **Dynamicky hodnotí a vhodne implementuje** zmeny v odporúčaníach ESC/EAS z r. 2019 týkajúce sa hodnotenia KV rizika (extrémne riziko, upravené parametre SCORE, aktualizované modifikátory rizika). Zdôrazňuje význam zobrazovacích metód, predovšetkým USG detekcie aterosklerotického (AS) plátu na karotických a/al. femorálnych artériách (IIa/B) a určenia koronárneho kalcia (IIb/B) u pacientov s nízkym alebo stredným vypočítaným KV rizikom. Správne zadaná kategória KV rizika má veľký význam pre manažment dyslipidémie, ktorá patrí medzi najzávažnejšie aterosklerotické (AS) KV rizikové faktory. Autor analyzuje dyslipidémiu ako cieľ KV prevencie. Definuje primárny (LDL-princíp) a sekundárny cieľ liečby dyslipidémie. Považuje aterogénnu dyslipidémiu, ktorá je parciálne zodpovedná za reziduálne KV riziko za ďalší možný terapeutický cieľ KV prevencie.

Nosnou časťou je 2. kapitola, v ktorej sú veľmi podrobne a didakticky na vysokej úrovni charakterizované jednotlivé triedy i subpopulácie lipoproteínov s odlišnými biochemickými a aterogénnymi vlastnosťami, ako aj ich úloha v patogenéze AS. Špecifikuje úlohu VLDL a IDL častíc i nízkej hladiny HDL-C v súvislosti s reziduálnym KV rizikom. „*Fenotyp B*“ s obsahom malých LDL častíc, resp. aj malých denzných LDL častíc (sdLDL) má veľký aterogénny potenciál, pričom aj malé HDL častice sú proaterogénne. Autor ďalej popisuje jednotlivé *metódy na stanovovanie lipoproteínových tried a subpopulácií*, pričom až na elektroforézu lipoproteínov sa iné metódy pre technickú a finančnú náročnosť v bežnej praxi nevyužívajú, nie je však určená ani štandardná metóda na ich vyšetrenie. Sľubnou metódou sa javí elektroforéza lipoproteínov na polyakrylamidovom géli (PAG): *Lipoprint systém* (Lipoprint LDL/HDLschválený FDA), používaný skôr pre vedecké účely, s ktorým má skúsenosti aj autor. Tento systém umožňuje získať informácie o aterogenite plazmy, nezávisle od bežne stanovenej dyslipidémie a to identifikáciou fenotypu B (aterogénneho lipoproteínového profilu), výsledky však v porovnaní s neelektroforetickými metódami vykazujú veľkú variabilitu. I keď 2019 ESC/EAS odporúčania neobsahujú jednoznačné stanovisko priameho vyšetrenia lipoproteínových subfrakcií, ich kvantifikácia ostáva v centre pozornosti vedeckého výskumu.

Koncentrovaný pohľad na patofyziológiu aterogénnej dyslipidémie ako nezávislého modifikujúceho faktora KV rizika prináša podkapitola 2.2. Autor tu charakterizuje aterogénnu dyslipidémiu (non-LDL dyslipidémiu) ako kvantitatívnu a kvalitatívnu zmenu lipidov a lipoproteínov, kde okrem klasickej aterogénnej triády hypertriacylglycerolémie, hypo- HDL-cholesterolémie a prítomnosti sdLDL častíc sú veľmi dôležité aj iné komponenty, a to zvýšená koncentrácia sd HDL častíc a remnantných lipoproteínových častíc, ktorých prítomnosť úzko súvisí s postprandiálnou hyperlipidémiou. Niektoré z uvedených komponentov sa bežne nestanovujú a tak aterogénna dyslipidémia uniká pozornosti, pričom jej manažment by mohol byť sekundárnym cieľom u pacientov, ktorí už majú dosiahnuté požadované hodnoty LDL-C ako primárny cieľ. **Z praktického hľadiska sú veľmi cenné markery, ktorými zisťujeme aterogenitu plazmy. Autor ich veľmi racionálne rozdeľuje** na bežne dostupné (TAG, HDL-C, non-HDL-C, apo-B, apoA1) a experimentálne markery (malé denzné LDL a HDL častice detekované systémom Lipoprint LDL/HDL). Podrobne je analyzovaný význam jednotlivých indikátorov aterogenity plazmy pri špecifických klinických stavoch, resp. typoch dyslipidémii pre hodnotenie AS KV rizika. Sú vymenované aj niektoré potenciálne diagnostické indikátory aterogenity plazmy s vyššou predikciou KV rizika než samotný LDL-C: ApoB, apo A1, resp. pomer ApoB/ApoA1, Lp(a), Lp-PLA2 –marker nestability AS plátu, moderný biomarker - aterogénny index plazmy (AIP) ale aj samotné sdLDL. Definované sú nepriame diagnostické kritériá fenotypu B s prevahou sdLDL, ktoré majú najväčší aterogénny potenciál z lipoproteínových častíc.

V podkapitole 2.3 sa autor venuje apolipoproteínom, dôležitým súčasťami lipoproteínov. Rôzny obsah jednotlivých apolipoproteínov odlišuje a mení aterogénny potenciál a iné biologické vlastnosti lipoproteínov. Apolipoproteíny sa javia ako sľubné biomarkery aj mnohých ďalších ochorení, napr. neurodegeneratívnych, autoimunitných, či onkologických. Napr. bližšie charakterizovanému Apo A1 (štrukturálna súčasť HDL) sa pripisuje okrem účasti na metabolizme lipoproteínov kardioprotektívny, antitrombotický, antikoagulačný, protizápalový, imunomodulačný, protinádorový účinok a ochrana mozgu pred kognitívnymi poruchami. Z hľadiska KV rizika je dôležité, že nie je súvislosť medzi koncentráciou ApoA1 a počtom antiaterogénnych HDL častíc. Ďalší charakterizovaný apolipoproteín, ApoB, ako štrukturálna súčasť lipoproteínov VLDL, IDL, LDL, Lp(a) a chylomikrónov je hodnotený hlavne z hľadiska jeho aterogénneho potenciálu: môže byť markerom počtu potenciálne aterogénnych VLDL, IDL, LDL, Lp(a) ale hlavne najaterogénnejšej subpopulácie - sdLDL; pri rovnakej koncentrácii LDL-C rozdielne hladiny ApoB môžu znamenať odlišné KV riziko; na základe výsledkov veľkých epidemiologických štúdií je dokázané, že ApoB je lepším prediktorom AS KV ochorení, než tradičné rizikové faktory, LDL-C, resp. non-HDL-C; pomer ApoB/ApoA1 (jeden z najsilnejších rizikových markerov) je zase lepším prediktorom KV rizika ako LDL-C.

V 3. kapitole sú uvedené vybrané, bežne hodnotené, (ale nedostatočne využívané) hematologické parametre asociované s KV morbiditou, mortalitou a úmrtnosťou z akejkoľvek príčiny: distribučná šírka erytrocytov (RDW) a stredný objem trombocytov (MPV). Zvýšený parameter RDW je asociovaný so zvýšeným rizikom úmrtia hlavne u pacientov s KV ochoreniami, napr. symptomatickým srdcovým zlyhávaním, rizikom trombozy stentu, vzniku ischemickej cievnnej mozgovej príhody, tromboembolických príhod, ale aj vzniku

fibrilácie predsieni. Sú kontroverzné klinické dáta o vzťahu medzi RDW a lipidmi, zvýšené hodnoty RDW sa vysvetľujú zmenenou integritou bunkových membrán pri zmenenom obsahu cholesterolu. RDW môže byť zvýšené aj pri zápalovom procese v organizme. MPV sa považuje za marker metabolickej, enzymatickej a funkčnej aktivity trombocytov, jeho zvýšená hodnota je spájaná s rizikom KV príhod, rizikom restenóz a mortality po akútnom infarkte myokardu, žilového tromboembolizmu, ale môže byť prognostickým markerom aj v prípade iných chronických ochorení. Patomechanizmus zmien MPV je komplexný s možným vplyvom aj základných KV rizikových faktorov. *Zaujímavý je dokumentovaný vzťah medzi stredným objemom trombocytov a dyslipoproteínmiou: dyslipidémia zvyšuje obsah cholesterolu v trombocytoch a tým aj ich aktivitu, na druhej strane liečba statínom znižuje stredný objem trombocytov a tým pravdepodobne inhibuje ich funkciu.*

Teoretická časť je vyčerpávajúca a má jasnú myšlienkovú líniu.

Cieľom habilitačnej práce bolo analyzovať význam vyšetovania lipoproteínových subpopulácií vo vzťahu k ostatným markerom aterogenity plazmy pred a po hypolipidemidkej liečbe a objasniť ich súvislosť s hematologickými biomarkermi MPV a RDW. **Ciele sú jasne definované a prezentované výsledky odpovedajú na tieto ciele.**

Súbory pacientov sú definované adekvátne, metódy sú zvolené v súlade s cieľmi práce, štatistické metódy sú použité správne, kritérium štatistickej významnosti je prísne.

Výsledky tejto prospektívnej štúdie sú prevažne prezentované vo forme tabuliek a obrázkov, resp. grafov s diferencovaním skúmaných parametrov základného súboru 80 pacientov s dyslipidémiou bez predchádzajúcej liečby. U 58,75% pacientov sa diagnostikovala izolovaná hypercholesterolémia a u 41,25% pacientov s kombinovanou dyslipidémiou, pričom v oboch skupinách bolo zastúpenie pacientov bez, resp. s liečbou hypertenzie a/alebo ischemickej choroby srdca približne rovnaké. Hodnotil sa výskyt neaterogénneho (fenotyp A), resp. aterogénneho (fenotyp B) lipoproteínového profilu u pacientov s izolovanou hyperecholesterolémiou, resp. kombinovanou hyperlipidémiou ako i zastúpenie lipoproteínových podtypov, tiež základný lipidový profil, markery aterogenity plazmy (ApoA1, Apo B, ApoB/ApoA1, sdLDL - LDL-3-7 systémom Lipoprint, AIP), krvný obraz (vrátane MPV, RDW), niektoré asociované nelipidové biochemické parametre a AS KV rizikové faktory pred a 3 mesiace po liečbe 40 mg atorvastatínom. Osobitne sa vyšetievali lipoproteínové subpopulácie pomocou systému Lipoprint LDL. Hodnotili sa korelácie medzi sdLDL a inými markermi aterogenity plazmy ako i medzi apolipoproteínmi a AIP, tiež medzi vybranými hematologickými parametrami a lipidmi, parametrami aterogenity plazmy, resp. subpopuláciami lipoproteínov. Cenné sú porovnávané hodnoty MPV a RDW pred a po liečbe statínom u pacientov s najvýznamnejším poklesom sdLDL aj v kontexte hodnotenia celej skupiny.

V diskusii autor analyzuje a porovnáva zistené výsledky s údajmi z literatúry. Veľmi racionálne hodnotí aterogénnu dyslipidémiu ako potenciálnu príčinu reziduálneho KV rizika, s nutnosťou jej detekcie, zároveň však poukazuje aj na jej nepresnú dostupnú laboratórnu diagnostiku a nutnosť zavádzania inovatívnych biomarkerov na hodnotenie aterogenity plazmy. Svojimi prezentovanými výsledkami (ako aj publikovanými prácami lipidologickej skupiny pracoviska) **autor presvedčivo argumentuje** v prospech priameho stanovovania aterogénnych lipoproteínových subpopulácií systémom Lipoprint LDL. *Zavedenie tejto inovatívnej metódy do bežnej klinickej praxe by umožnilo presnú diferenciáciu dyslipidémií na aterogénne, resp. neaterogénne, odhalenie aterogénnej normolipémie ako i pretrvávajúcej aterogénnej dyslipoproteínémie po statínovej liečbe (reziduálne KV riziko) a následne prehodnotenie KV rizika a personalizovanú liečbu.* **Mimoriadne cenné sú prognostické vízie** autora ohľadom stanovovania bežne dostupných laboratórných hematologických parametrov (MPV a RDW) pri predikcii KV príhod, podozrení na aterogénnu dyslipidémiu v spojení s ostatnými lipidovými parametrami a sledovaní efektu statínovej liečby. Implementácia výsledkov tejto práce **môže prispieť k zníženiu KV morbidita a mortality. Z tohto aspektu je treba vysoko hodnotiť novátorský prístup a preventívne zameranie práce. Interpretácia výsledkov**

dokumentuje vysokú úroveň vedeckého myslenia so schopnosťou pomenovania problému a návrhom riešenia.

Cenný je kritický prístup **k limitáciám štúdie** (malý súbor, dĺžka sledovaného obdobia, absencia najviac rizikových pacientov s AS KV ochoreniami, hodnotený len atorvastatín, nesledovaná aktivita enzýmov zapojených do metabolizmu cholesterolu).

Záver sú koncízne, vyplývajú z prezentovaných výsledkov, **aj originálnych, inak sú v zhode s literárnymi údajmi, resp. dopĺňajú doteraz publikované dáta. Je poukázané aj na možné implikácie pre klinickú prax.**

Za najvýznamnejšie výsledky habilitačnej práce považujem:

- **originálne zistenie: vzťah MPV a RDW k jednotlivým lipoproteínovým subpopuláciám**
 - **signifikantná pozitívna korelácia MPV a RDW s markermi aterogenity plazmy**
 - **signifikantná korelácia sdLDL, resp. AIP s ostatnými markermi aterogenity plazmy (AIP je pre prax dostupný marker aterogenity plazmy)**
 - **po liečbe atorvastatínom 40 mg významný pokles sdLDL, ale zaujímavý nález pretrvávajúcej aterogénnej normolipémie u 17% pacientov**
 - **po liečbe atorvastatínom 40 mg významný pokles hodnoty MPV a RDW**

Silné stránky habilitačnej práce:

Preventívne zameranie, racionálne ciele, jednoduchý dizajn, dlhoročné skúsenosti autora s použitou metodikou. Prezentácia originálnych výsledkov, bežných hematologických parametrov s užitočnou doplňujúcou informáciou pre manažment KV rizika, použiteľnou v praxi aj napriek chýbajúcej opore v štandardných odporúčaníach.

K predloženej práci nemám závažnejšie pripomienky, iba otázku doplňujúceho charakteru:

Otázky:

1. Ako ovplyvňuje HDL-C výpočet 10-ročného fatálneho KV rizika p. SCORE?

Celkové hodnotenie:

MUDr. Marek Kučera, PhD., MHA, MPH, patrí v danej problematike medzi našich popredných odborníkov. Napísal veľmi hodnotnú habilitačnú prácu. Je publikačne veľmi aktívny. Odporúčam habilitačnú prácu prijať ako presvedčivý podklad pre habilitačné pokračovanie odboru vnútorné choroby.

S úctou,
MUDr. Eva Szabóová, PhD.

doc.

V Košiciach, 19.7.2021