

Dr hab.n.med. Dariusz Dziezic
Klinika Chirurgii
Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc
Ul. Płocka 26
01-138 Warszawa

Warszawa 15.03.2021

**Recenzja rozprawy doktorskiej lekarza Michała, Jana Kubisy zatytułowanej:
Analiza czynników rozwoju pierwotnej niewydolności graftu (PGD) u pacjentów po
przeszczepie płuc**

Transplantacja płuc (LTx) jest coraz częściej stosowaną metodą leczenia osób dorosłych z zaawansowaną chorobą płuc, a liczba przeszczepów podwoiła się od 2005 r. do prawie 4000 operacji rocznie na całym świecie. W Polsce zabiegi LTx przeprowadzane są w 5 ośrodkach transplantologicznych. W latach 2019 i 2020 wykonano odpowiednio 57 i 51 zabiegów transplantacji płuc, co wskazuje, że ta dziedzina medycyny powinna być sukcesywnie rozwijana w celu pokrycia pełnego zapotrzebowania na ten typ leczenia, którego poziom optymalny powinien osiągnąć wartość około 150 zabiegów w roku. Według ogólnie przyjętej definicji LTx stanowi jedyną, skuteczną metodę terapii w schyłkowym okresie choroby płuc doprowadzającym do niewydolności oddechowej mimo zastosowaniu optymalnego leczenia i braku innych możliwości leczenia, z przewidywaną szansą przeżycia powyżej 2-3lat <50% lub/i stopniem wydolności III-IV w skali NYHA. Obecnie wskazaniami najczęstszymi do zabiegu LTx są:

- Rozedma płuc
- Mukowiscydoza
- Obturacyjna choroba płuc
- Sarkoidoza
- Włóknienie płuc
- Rozstrzenie oskrzeli
- Choroby naczyń płucnych

Przeszczepy płuc stanowią niezwykle złożoną procedurę wymagającą koordynację szeregu elementów począwszy od właściwej selekcji i przygotowania biorcy oraz dawcy, sprawnej organizacji zabiegu pobrania i wszczepienia narządu, ścisłego nadzoru nad chorym we

wczesnym okresie po transplantacji i w końcu wieloletniej kontroli chorych i leczeniu powikłań immunosupresji i procesu odrzucania. Wyniki odległe transplantacji płuc nadal są dalekie od oczekiwań. W przypadku przeszczepów serca, wątroby i nerek 1-, 3- i 5-letnia przeżycia wynoszą odpowiednio: 90%, 85% i 77%; 89%, 80% i 52% oraz 95%, 88% i 78%. Na tym tle wyniki uzyskiwane w przeszczepach płuc są znamienne gorsze i wynoszą odpowiednio 87%, 68% i 52%. Przy czym wykazano istotną statystycznie różnicę w wyniku odległym w zależności od rodzaju procedury: przeszczep pojedynczego płuca (SLT) vs przeszczep obu płuc (BLT). W przypadku SLT 1-, 3- i 5-letnie przeżycia wynoszą odpowiednio 61%, 59% i 23% podczas gdy w przypadku BLT wyniki są znamienne lepsze (odpowiednio 69%, 59% i 41%). Istotnym czynnikiem mającym wpływ na przeżycia jest choroba zasadnicza biorcy. 3-letnie przeżycia dla chorych z POCHP wynoszą 56,3%, z nadciśnieniem płucnym 73%, z mukowiscydozą 99,7%, a z włóknieniem płuc 97,7%. Wyniki odległe są wypadkową szeregu czynników występujących po stronie dawcy i biorcy oraz związanych z techniką operacyjną. Ze względu na wciąż niedostateczną liczbę dawców na całym świecie wiele ośrodków wprowadziło rozszerzone kryteria doboru dawców obejmujące między innymi wydłużony wiek powyżej 55 roku życia. Jest to jeden z potwierdzonych niezależnych czynników prognostycznych, podobnie jak również stopień zaawansowania choroby biorcy w momencie kwalifikacji do przeszczepu. Jak wykazano przeszczep płuca od dawcy w wieku 60 lat skutkuje 10% spadkiem odsetka 10-letnich przeżyć w porównaniu do dawcy w wieku 36 lat. Kolejnym krytycznym punktem procedury przeszczepu jest czas zimnego niedokrwienia, który w przypadku płuca nie powinien przekraczać 6 godzin. Reżim czasowy musi być skrupulatnie przestrzegany, chociaż na świecie zaawansowane są prace nad urządzeniami do przechowywania płuc przed wszczepieniem poza organizmem człowieka w warunkach normotermii, przy zachowanej wentylacji i perfuzji. Badania eksperymentalne wykazują, że wydłuża to czas przechowywania i transportu płuca do blisko 72 godzin, pozwalając jednocześnie na odpowiednie leczenie farmakologiczne przed wszczepieniem. W ostatniej dekadzie obserwuje się stały wzrost wykorzystania technik pozaustrojowego wspomaganie życia (ECLS), w tym techniki ECMO u biorców w krytycznym okresie niewydolności oddechowej jako leczenie pomostowe do przeszczepu płuca. Niestety omawiana technika niesie za sobą także pogorszenie wyników odległych, szczególnie w grupie starszych chorych. Pomimo zaawansowanych technik i coraz rozleglejszej wiedzy na temat mechanizmów związanych z procesem odrzucania przeszczepu nadal odległe wyniki warunkowane są przez wczesne i późne powikłania pooperacyjne. Jednym z istotnych powikłań wczesnych jest pierwotna niewydolność graftu (PGD-primary graft dysfunction). PGD definiuje się jako

uszkodzenie płuc, które występuje w ciągu pierwszych 72 godzin po implantacji płuca, którego obrazem są rozlane ogniska obrzęku lub nacieku alloprzeszczepu na radiogramie klatki piersiowej, a ciężkość PGD ocenia się według wartości PaO₂ (ciśnienie tętnicze tlenu w mmHg) / FiO₂ (ułamek wdychanego tlenu we wdychanym gazie). Przyjmuje się współczynniki > 300 dla łagodnego postaci (stopień 1), 200–300 dla umiarkowanej (stopień 2) i <200 dla ciężkiej (stopień 3). U prawie jednej trzeciej biorców przeszczepu płuc rozwija się PGD w stadium 3 i chociaż zidentyfikowano szereg markerów, które korelują ze zwiększonym ryzykiem PGD w wysokim stadium, interwencje inne niż leczenie wspomagające były stosunkowo nieskuteczne w zapobieganiu lub leczeniu PGD. Czynniki ryzyka rozwoju PGD obejmują zarówno czynniki związane z dawcą, jak i biorcą, czynniki chirurgiczne w czasie przeszczepu, uszkodzenie nabłonka, uszkodzenie i aktywację śródbłonka oraz wyzwalenie zarówno wrodzonej, jak i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Kluczowym wczesnym mechanizmem patogenezy PGD jest translokacja neutrofilii z krążącej krwi do przestrzeni śródmiąższowej i powietrznej w odpowiedzi na chemotaksyny, takie jak cząsteczki związane z uszkodzeniem (DAMP) lub CXCL8, które są uwalniane w wyniku uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego. Różne prozapalne cytokiny, reaktywne związki pośrednie tlenu i enzymy proteolityczne są głównymi mediatorami rozerwania tkanki w płucu poddanym reperfuzji, uszkodzonym przez niedokrwienie i innych typach komórek, takich jak makrofagi płucne i limfocyty, co również odgrywa rolę w ostrym uszkodzeniu płuc i utracie integralności nabłonka prowadząc do obrzęku śródmiąższowego, który występuje w PGD. Szereg wspólnych badań przeprowadzonych i opublikowanych przez Lung Transplant Outcome Group dostarczyło dodatkowych informacji na temat czynników ryzyka PGD i mechanizmów patogenezy. Godne uwagi obserwacje obejmują powiązanie wariantu genetycznego, białka oddziałującego z Toll rs3168046 (TOLLIP), z kliniczną postacią PGD i wyższym krążącym inhibitorem aktywatora plazminogenu-1 (PAI-1), który został wcześniej zidentyfikowany jako ilościowy biomarker uszkodzenia płuc. W innych niedawnych badaniach zidentyfikowano patogenną rolę pozakomórkowych pułapek neutrofilii. Jeśli chodzi o całą procedurę przeszczepu płuc, istnieje kilka miejsc, które mogą stanowić potencjalne czynniki ryzyka późniejszej PGD. Śmierć mózgu prowadzi do zaburzeń hemodynamicznych, zaburzeń hormonalnych, hipotermii i uwolnienia cytokin zapalnych. Ciepłe niedokrwienie występujące po zatrzymaniu krążenia podczas pobierania narządów, a następnie zimne niedokrwienie w celu ich ochrony powoduje pogorszenie natlenienia tkanek. Uwalnianie cytokin zapalnych, a mianowicie IL-8, IL-12, IL-18, TNF-alfa i IFN-gamma wyzwała kaskadę apoptozy tkanek, martwicę i powoduje dysfunkcję narządu. Czynniki związane z dawcą można podzielić na

dziedziczne i nabyte. Stwierdzono, że ryzyko PGD wzrasta u dawców w wieku powyżej 32–45 lat. Wykazano liniową zależność między rozwojem PGD a wiekiem dawców powyżej 35 roku życia, oceniając wzrost ryzyka PGD o 3% na każdy rok wieku dawców. Nowsze dane sugeruje, że związane z wiekiem ryzyko PGD jest ograniczone do skrajnych grup wiekowych, a w przypadku dawców w zakresie wieku od 55 do 64 lat nie obserwowano zwiększonego ryzyka PGD. Kolejnym czynnikiem ryzyka dawcy to rasa, płeć żeńska i historia narażenia na tytoń. W analizie wpływu palenia przez dawców wykazano, że ekspozycja na dym u dawcy była związana z gorszymi wynikami u biorców. Jednak prawdopodobieństwo przeżycia nadal przewyższało przeżycia osób na liście oczekujących. Wydaje się również, że spożywanie alkoholu zwiększa ryzyko PGD, przy czym dawcy sklasyfikowani jako „nadużywający alkoholu” wykazują 9-krotnie wyższe ryzyko ciężkiego PGD w porównaniu z osobami, które nie spożywają alkoholu. Czynnikiem prognostycznym rozwoju PGD jest również choroba zasadnicza biorcy. W zależności od choroby wyjściowej częstość występowania PGD wynosiła 11,8% u pacjentów z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc (POChP), 12,4% z mukowiscydozą, 18,0% u pacjentów z idiopatycznym zwłóknieniem płuc (IPF), 50% z sarkoidozą i 30,3% u pacjentów z mukowiscydozą. W kilku badaniach, w tym metaanalizie i dużym wieloośrodkowym badaniu kohortowym wykazano, że IPAH jest silnie powiązany z ryzykiem PGD. Dzieje się tak nawet po skorygowaniu ciśnienia skurczowego w tętnicy płucnej biorcy, przy czym doniesienia podkreślają, że wykazano, że wyższe ciśnienie tętnicze płucne jest silnie skorelowane z rozwojem PGD, przy czym ryzyko PGD zwiększa się o 30% na każde 10 mmHg wzrostu średniej PAP. Niezależnymi czynnikiem ryzyka rozwoju PGD jest indeks masy ciała biorcy (BMI). Wykazano związek między stężeniem leptyny w osoczu, które jest związane z otyłością, a ryzykiem PGD, przy czym otyłość wiąże się z ponad 2-krotnym zwiększeniem ryzyka PGD stopnia 3 w ciągu 72 godzin po operacji u dorosłych biorców przeszczepu płuc z POChP lub ILD. Na rozwój PGD wpływ ma także sama technika operacyjna. Wykazano, że zasadniczy wpływ ma przeszczep pojedynczego płuca, przedłużony czas niedokrwienia, zastosowanie krążenia pozaustrojowego (CPB), transfuzja krwinek czerwonych powyżej 1 litra i reperfuzja FiO₂ powyżej 0,4 (5,13,28-30). Potwierdzono, że pacjenci, którzy otrzymali śródoperacyjną transfuzję krwi powyżej 4 jednostek, wykazywali wzrost ryzyka rozwoju PGD. Wartość FiO₂ w trakcie reperfuzji jest również postrzegana jako niezależny czynnik ryzyka PGD. Zwiększone ryzyko PGD po 48-72 godzinach od reperfuzji, obserwowano u chorych, u których wartość FiO₂ reperfuzji wynosiła > 0,4, z bezwzględnym ryzykiem wzrost o 6% w porównaniu z reperfuzyjnym FiO₂ <0,4.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lekarza Michała Jana Kubisy, liczy łącznie 68 stron i zawiera 100 pozycji piśmiennictwa krajowego i zagranicznego. Dysertacja zilustrowana jest 12 tabelami i 18 rycinami; zawiera również 4 strony indeksu skrótów, tożsame streszczenia w języku polskim i angielskim, po 1 stronie spisu tabel i spisu rysunków. Układ i proporcje poszczególnych części pracy są prawidłowe.

Rozdział pierwszy zatytułowany „Wstęp” podzielony jest na 5 podrozdziałów. Każdy z nich przedstawia dokładnie i rzeczowo aspekty kliniczne przeszczepu płuc w poszczególnych jednostkach chorobowych z uwzględnieniem indywidualnych kryteriów włączenia i wyłączenia. W dalszej części rozdziału przedstawiona została technika chirurgiczna zabiegu pobrania i wszczepienia narządu, z uwzględnieniem kluczowych momentów, mających wpływ na przebieg pooperacyjny. Rozdział „Wstęp” kończy podrozdział omawiający najczęstsze powikłania wczesne i późne zabiegu transplantacji płuc z uwzględnieniem PGD jako jednego z istotnych czynników niepowodzeń. W kolejnym rozdziale zatytułowanym „Pierwotna niewydolność graftu (PGE)” autor przedstawia szczegółowo definicję i patogenezę PGD z uwzględnieniem najważniejszych czynników ryzyka. Na uwagę zasługują wyczerpująco przedstawione mechanizmy molekularne PGD opisane zgodnie z najnowszą wiedzą w tym temacie łącznie z przytoczonymi danymi eksperymentalnymi nie mającymi jeszcze pełnego potwierdzenia klinicznego. Rozdział kończy opis wpływu PGD na wyniki odległe i znaczenie kliniczne. Następne dwa rozdziały stanowią cel oraz materiał i metodę badania. Celem pracy jest retrospektywna analiza czynników ryzyka dawcy i biorcy wpływających na rozwój PGD, a w szczególności najcięższej postaci PGD 3. Materiał obejmuje 65 biorców, z czego 59 spełniło kryteria analizy. Następny rozdział zawiera wyniki i został podzielony na 3 podrozdziały w zależności od wariantu analizowanych zmiennych. W części pierwszej przeanalizowano różnice w populacjach PGD- i PGD+. Wykazano, że czynnikami zwiększającymi ryzyko PGD jest BMI dawcy (OR: 1,40, $p=0,017$) oraz OCŻ dawcy (OR: 1,28, $p=0,033$). Natomiast stwierdzono odwrotną korelację z wiekiem biorcy (OR: 0,91; $p=0,029$). W wariacie 2 analizowano populacje PGD- vs PGD 3. W wykonanej analizie wykazano, że czynnikami rozwoju PGD 3 są: CIT (OR: 1,01, $p=0,022$) i OCŻ dawcy (OR: 1,66, $p=0,016$). W wariacie 3 analizie poddano populacje PGD 0-2 vs PGD 3. Uzyskane wyniki wskazują, że czynnikiem prognostycznym rozwoju PGE 3 jest OCŻ dawcy (OR: 1,33, $p=0,03$). W „Dyskusji” autor pracy odnosi się do uzyskanych wyników. Jednym, z kluczowych czynników rozwoju PGD i PGD 3 jest podwyższone OCŻ dawcy, co można tłumaczyć przewodnieniem w łożysku płucnym powodującym obrzęk i zmniejszenie oksygenacji krwi, w konsekwencji prowadząc do powikłań pooperacyjnych. Kolejnym czynnikiem prognostycznym okazał się

CIT. Średnia wartość czasu zimnego niedokrwienia dla populacji PGD- wyniosła 467 min, podczas gdy w populacji PGD 3 osiągnęła wartość 562 min. Według autora wydłużenie czasu CIT powyżej 9h prowadzi do rozwoju PGD 3. Jednym z istotnych czynników ryzyka, jak wynika z omawianej pracy jest BMI. Wykazano, że wzrost współczynnika o 1kg/m² wiązał się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia PGD o współczynnik 1,40 (p=0,017). Jednym z istotnych czynników mających wpływ na opisaną zależność jest wyższy poziom leptyny, która ma działanie prozapalne i może wzmagać rozwój PGD. Czynnikiem, które go znaczenie nie jest do końca jasne w świetle uzyskanych wyników jest wiek biorcy, którego wzrost zmniejsza ryzyko powstania PGD (każdy dodatkowy rok o współczynnik 0,91). Pomimo zbliżonych danych prezentowanych w literaturze fenomen ten jest niejasny. Być może takie wyniki są skutkiem małej liczebności grupy, co autor w komentarzu wyraźnie zastrzegł. Z analizy wszystkich grup wyłączono chorych, u których stosowano ECMO, uznając, że ta grupa wyjściowo zawiera pacjentów w gorszym stanie ogólnym, a potencjalna analiza mogłaby być zafałszowana przez dominujący czynnik jakim było użycie ECMO. We wnioskach należy wskazać punkty mające znaczenie praktyczne dla zespołów zajmujących się przeszczepami płuc. Jak wyniki z recenzowanej dysertacji wnioski można przedstawić w poniższych punktach:

- rosnący wiek zmniejsza ryzyko wystąpienia PGD
- rosnące BMI wiąże się ze wzrostem ryzyka rozwoju PGD
- rosnące OCZ wiąże się ze wzrostem ryzyka rozwoju PGD
- rosnący czas CIT wiąże się ze wzrostem ryzyka rozwoju PGD

Należy zgodzić się z końcową sugestią autora, że prace nad wskazanymi powyżej czynnikami ryzyka należą przeprowadzić na liczniejszej grupie chorych w celu potwierdzenia uzyskanych wniosków.

Podsumowując, praca omawia niezwykle ważny klinicznie temat z perspektywy jednego ośrodka, co może stanowić przesłankę do analizy zagadnienia w szerszej skali całego kraju, z uwzględnieniem dodatkowych uwarunkowań wpływających na wyniki transplantacji płuc. Dogłębna analiza czynników mających wpływ na gorsze wyniki przeszczepów płuca w wybranych grupach chorych powinno skłaniać do intensyfikacji opieki przedoperacyjnej w celu poprawy wyników. W wymiarze praktycznym recenzowana praca na stopień doktora nauk medycyny wnosi szereg istotnych wskazówek w pracy klinicznej i może przyczynić się do lepszego zrozumienia przyczyn powikłań transplantacji płuc.

Recenzent nie ma uwag dotyczących metodyki badań ani sposobu prezentacji wyników.

Prawidłowo określone cele badawcze, szczegółowo zaplanowane i przeprowadzone badania, prawidłowa interpretacja wyników, a także ich dyskusja wskazują na dużą znajomość tematyki badawczej i świadczą o tym, że doktorantka jest dojrzałym pracownikiem naukowym. Uważam, że przedstawiona do recenzji praca lekarza Michała Jana Kubisy spełnia wszystkie wymogi rozprawy doktorskiej określone w ustawie o Szkolnictwie Wyższym. Wnoszę więc do Rady Naukowej Wydziału Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie lekarza Michała, Jana Kubisy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dariusz Dziedzic', written in a cursive style.

Dr hab.n.med.Dariusz Dziedzic