

## **Autoreferat**

### **1. Imię i Nazwisko**

Paweł Rubiś

### **2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

Lekarz medycyny, dyplom z wynikiem dobrym – Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Kraków 2002

Doktor nauk medycznych, z wyróżnieniem – Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Kraków 2008; tytuł rozprawy doktorskiej: „Przydatność echokardiograficznego testu wysiłkowego w diagnostyce chorych z kardiomiopatią niedokrwienną”.

Specjalista chorób wewnętrznych – Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Kraków 2009

Specjalista kardiologii – Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Kraków 2014

Certyfikat samodzielnego operatora kardiologii inwazyjnej – Asocjacja Interwencji Sercowo-Naczyniowych Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, Kraków 2016

Certyfikat Uniwersytetu w Cambridge – “Certificate in Advanced English”, Cambridge 2001

Certyfikat Uniwersytetu w Cambridge – “First Certificate in English”, Cambridge 1999

### **3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.**

1996-2002 – Studia na Kierunku Lekarskim Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum

2002-2003 – Szpital Uniwersytecki w Krakowie – staż podyplomowy

2003-2007 – Studia doktoranckie na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum

od roku 2003 – Oddział Kliniczny Chorób Serca i Naczyń w Krakowskim Szpitalu Specjalistycznym im. Jana Pawła II

październik 2009-maj 2010 – Hull and East Yorkshire Medical School, Department of Academic Cardiology, Kingston-upon-Hull, Wielka Brytania

od października 2016 – dwu-letnie studia “Postgraduate Course in Heart Failure”, Univeristy of Zurich, Zurich, Szwajcaria

**4. Wskazanie osiągnięcia\* wynikającego z art. 16 ust. 2 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 ze zm.):**

W ramach osiągnięcia przedstawiono monotematyczny cykl trzech publikacji dotyczący włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej, wymienionych w punkcie 4b, których jestem pierwszym autorem i które zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, o łącznym impact factor – 12,336 i punktacji MNiSW – 80.

**a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,**

Rola włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej w patogenezie kardiomiopatii rozstrzeniowej.

**b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),**

A. **Rubiś P**, Totoń-Żurańska J, Wiśniowska-Śmiałek S, Holcman K, Kołton-Wróż M, Wołkow P, Wypasek E, Natorka J, Rudnicka-Sosin L, Pawlak A, Kozanecki A, Podolec P. Relations between circulating microRNAs (miR-21, miR-26, miR-29, miR-30 and miR-133a), extracellular matrix fibrosis and serum markers of fibrosis in dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2017; 231: 201-6. (wskaźnik Impact Factor: 6,189), wydawnictwo Elsevier®.

B. **Rubiś P**, Wiśniowska-Smiałek S, Wypasek E, Rudnicka-Sosin L, Hlawaty M, Leśniak-Sobelga A, Kostkiewicz M, Podolec P. 12-month patterns of serum markers of collagen synthesis, transforming growth factor and connective tissue growth factor are similar in new-onset and chronic dilated cardiomyopathy in patients both with and without cardiac fibrosis. *Cytokine* 2017; 96: 217-27. (wskaźnik Impact Factor: 3,488), wydawnictwo Elsevier®.

C. **Rubiś P**, Wiśniowska-Śmiałek S, Wypasek E, Biernacka-Fijalkowska B, Rudnicka-Sosin L, Dziewiecka E, Faltyn P, Khachatryan L, Karabinowska A, Kozanecki A, Tomkiewicz-Pajak L, Podolec P. Fibrosis of extracellular matrix is related to the duration of the disease but is unrelated to the dynamics of collagen metabolism in dilated cardiomyopathy. *Inflamm Res* 2016; 65:941-49. (wskaźnik Impact Factor: 2,659), wydawnictwo Springer®.

**c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

**Wstęp**

Tkanka mięśnia serca składa się z trzech głównych elementów: kardiomiocytów, elementów niekurczliwych: macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *extracellular matrix* – *ECM*) i komórek podścieliska (fibroblasty, makrofagi) oraz sieci naczyń krwionośnych. Włóknienie serca, spowodowane nadmierną produkcją kolagenu ECM, jest podstawą remodelingu serca. Przebudowa i włóknienie ECM odgrywa istotną rolę w patogenezie kardiomiopatii rozstrzeniowej i niewydolności serca.

Kardiomiopatia rozstrzeniowa jest chorobą mięśnia sercowego, rozpoznawaną po wcześniejszym wykluczeniu choroby wieńcowej, nadciśnienia tętniczego, nabytej wady zastawkowej i wrodzonej wady serca. Fenotypowo kardiomiopatia rozstrzeniowa charakteryzuje się poszerzeniem (rozstrzenię) lewej lub obu komór serca i zwykle ciężkim upośledzeniem czynności skurczowej. Kardiomiopatia rozstrzeniowa jest trzecią co do częstości przyczyną przewlekłej, skurczowej niewydolności serca, po nadciśnieniu tętniczym i chorobie wieńcowej. Roczna zapadalność wynosi od 5 do 8 nowych przypadków na 100 000. Chociaż chorobę można rozpoznać w każdym wieku, to najczęściej dotyczy młodzieży i młodych dorosłych, stając się tym samym chorobą całego dorosłego życia, znacznie zwiększając chorobowość i śmiertelność. Przebieg kardiomiopatii rozstrzeniowej może być bardzo różny, począwszy od przebiegu łagodnego, kończącego się korzystnym odwrotnym remodelingiem lewej komory (ang. *left ventricular reverse remodeling – LVRR*), do bardzo ciężkich stanów, dla których jednym ratunkiem jest przeszczep serca lub mechaniczne wspomaganie lewej komory (ang. *left ventricular assist device – LVAD*).

Badania ostatnich lat wskazują, że mikroRNA, będące krótkimi, niekodującymi sekwencjami RNA, które regulują post-translacyjną ekspresję genów, mają istotne znaczenie w patofizjologii chorób serca. Badania na modelach zwierzęcych i pojedyncze doniesienia u ludzi wskazują, że mikroRNA regulują metabolizm ECM. Postulowany jest udział osi regulacyjnej: mikroRNA kontrolujące proces włóknienia – transformujący czynnik wzrostu (ang. *transforming growth factor – TGFβ*) – czynnik wzrostu tkanki łącznej (ang. *connective tissue growth factor – CTGF*) w metabolizmie kolagenu i przebudowie ECM. Dotychczas nie przeprowadzono analizy znaczenia mikroRNA, TGFβ i CTGF w kontroli metabolizmu kolagenu u pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową.

### **Cele pracy**

Celem pracy było zbadanie patomechanizmów odpowiedzialnych za proces włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej, w oparciu o biopsję mięśnia serca oraz tkankowe i krążące markery włóknienia i mikroRNA.

Cele szczegółowe zostały przedstawione w cyklu wymienionych powyżej publikacji.

- A. Ocena znaczenia krążących mikroRNA: miR-21, miR-26, miR-29, miR-30 i miR-133a oraz osoczowych markerów włóknienia w patogenezie włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej.
- B. Ocena 12-miesięcznej kinetyki osoczowych markerów włóknienia u chorych z wczesną i przewlekłą prezentacją kardiomiopatii rozstrzeniowej.
- C. Ocena zależności między włóknieniem macierzy zewnątrzkomórkowej a czasem trwania choroby i osoczowymi markerami włóknienia u chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową.

### **Grupa badana i metodyka**

Od lipca 2014 do października 2015 roku do badania włączono 70 pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową, w tym 35 chorych z wczesną prezentacją ( $\leq 6$  miesięcy od rozpoznania) i 35 chorych z przewlekłą chorobą ( $> 6$  miesięcy od rozpoznania). Do badania włączono tylko pacjentów, którzy posiadali szczegółowe kryteria włączenia i nie posiadali żadnego kryterium wykluczającego. Pacjentów do badania rekrutowano w Oddziale Klinicznym Chorób Serca i Naczyń oraz w Poradni Kardiologicznej

w Krakowskim Szpitalu Specjalistycznym im. Jana Pawła II. Ponadto, w badaniu wyszczególniono dwie grupy kontrolne: pierwsza to 20 zdrowych ochotników, u których wykonywano badanie echokardiograficzne i jednorazowo pobrano krew żylną do oznaczeń laboratoryjnych oraz druga grupa kontrolna, którą stanowili chorzy z chorobą wieńcową i zachowaną funkcją skurczową lewej komory, którzy byli poddani zabiegowi operacyjnemu – pomostowania aortalno-wieńcowego. W tej grupie chorych oprócz badania echokardiograficznego i pobrania krwi żyłnej, śród-operacyjnie pobierano niewielkie fragmenty ściany prawego przedsionka do oceny histopatologicznej.

Poza standardowymi badaniami wykonywanymi w diagnostyce skurczowej niewydolności serca, wykonywano również badania dodatkowe, niezbędne do realizacji projektu, które obejmowały:

1. kardiologiczny rezonans magnetyczny
2. biopsję mięśnia serca wraz z oceną histopatologiczną i immunohistochemiczną bioptatów
3. badania laboratoryjne:
  - a) produkty metabolizmu kolagenu (N-końcowe pro-peptydy kolagenu I i III – PINP i PIIP oraz C-końcowe pro-peptydy – PICP i PIICP),
  - b) czynniki kontrolujące proces włóknienia macierzy zewnątrz-komórkowej – TGF $\beta$  i CTGF (oznaczenia we krwi i tkance mięśnia serca),
  - c) mikroRNA: miR-21, miR26, miR29, miR-30 i miR-133a (oznaczenia we krwi i tkance mięśnia serca).
4. wizyty kontrolne w 3 i 12 miesiącu, podczas których powtórzono badanie echokardiograficzne i ww. oznaczenia z krwi.

Metodykę badań omówiono szczegółowo w publikacjach wymienionych w punkcie 4b.

Badania przeprowadzono wspólnie z pracownikami Oddziału Klinicznego Chorób Serca i Naczyń Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, a także z pracownikami Krakowskiego Szpitala Specjalistycznego im. Jana Pawła II:

- dr n. med. Lucyną Rudnicką-Sosin z Zakładu Patomorfologii
- dr n. biol. Ewą Wypasek i dr n. biol. Joanną Natorską z Zakładu Biologii Molekularnej

a także z naukowcami z ośrodka zewnętrznego:

- dr n. med. Paweł Wołkow i dr n. biol. Justyna Totoń-Żurańska z Ośrodka Genomiki Medycznej – „Omicron” Wydziału Lekarskiego UJ CM

Badanie zrealizowano w oparciu o grant własny, otrzymany w ramach konkursu SONATA-5, ze środków Narodowego Centrum Nauki (decyzja nr DEC-2013/09/D/NZ5/00252) na projekt pt. „Rola wybranych mikroRNA (miR-21, miR-29, miR-30 i miR-133a) w regulacji ekspresji transformującego czynnika wzrostu beta w patogenezie włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej u chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową”.

**Ad A.** Ocena znaczenia krążących mikroRNA: miR-21, miR-26, miR-29, miR-30 i miR-133a oraz osoczowych markerów włóknienia w patogenezie włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej.

## **Wnioski**

Niezależnie od czasu trwania choroby i obecności lub braku włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej nie stwierdzono różnic w osoczowej ekspresji mikroRNA związanych z procesem włóknienia, tj. miR-21, miR-26, miR-29, miR-30 i miR-133a u chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową.

Spośród pięciu ocenianych mikroRNA jedynie miR-26 korelował z włóknieniem macierzy zewnątrzkomórkowej wyrażonej w sposób jakościowy (obecność/brak) natomiast miR-26 i miR-30 silnie korelowały z frakcją objętości kolagenu (ang. *collagen volume fraction – CVF*), która jest ilościowym wyrażeniem włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej.

Krążące mikroRNA korelowały z wieloma osoczowymi markerami włóknienia, a miR-133a korelował ze wszystkimi poziomami włóknienia, tj. z markerami metabolizmu kolagenu, czynnikami regulującymi włóknienie i antagonistycznym systemem metaloproteinaz macierzy i ich tkankowych inhibitorów. Ponadto miR-133a okazał się być jedynym niezależnym predyktorem CVF.

## **Omówienie**

Badania podstawowe, głównie na modelach zwierzęcych, dostarczyły wstępnych danych na temat roli krążących i tkankowych mikroRNA w procesie włóknienia ECM. Badania u ludzi są nieliczne, a wyniki niejednoznaczne. Dotychczas nie zbadano powiązania między mikroRNA, które wydają się mieć rolę w procesie włóknienia, tj. miR-21, miR-26, miR-29, miR-30 i miR-133a a włóknieniem ECM u chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową. Ponadto w niniejszej pracy oceniono zależności między ww. mikroRNA a osoczowymi markerami włóknienia, tj. wskaźnikami metabolizmu kolagenu (PICP, PINP, PIIICP i PIIINP), czynnikami kontrolującymi proces włóknienia (TGF $\beta$  i CTGF) i systemem metaloproteinaz i ich tkankowych inhibitorów (MMP-2, MMP-9 i TIMP-1).

Ekspresja krążących mikroRNA była porównywalna u chorych z wczesną i przewlekłą prezentacją kardiomiopatii rozstrzeniowej, a także nie różniła się u chorych podzielonych względem obecności lub braku włóknienia ECM. Krążący miR-26 stosunkowo słabo korelował z włóknieniem ECM ( $r=0,24$ ;  $p<0,05$ ) i znacznie silniej z CVF ( $r=0,48$ ;  $p<0,01$ ) natomiast miR-133a bardzo silnie korelował z CVF ( $r=0,72$ ;  $p<0,001$ ). Badane mikroRNA korelowały, choć słabo lub umiarkowanie, z licznymi osoczowymi markerami włóknienia, w tym miR-133a korelował z największą liczbą markerów, tj. ze wskaźnikami metabolizmu kolagenu (z PIIINP –  $r=0,24$ ;  $p<0,05$ ), czynnikami kontrolującymi proces włóknienia (z CTGF –  $r=0,24$ ;  $p<0,05$ ), systemem MMP/TIMP (MMP-2 –  $r=0,28$ ;  $p<0,05$  a z TIMP-1 –  $r=0,26$ ;  $p<0,05$ ). Na podstawie regresji logistycznej i liniowej stwierdzono, że miR-26 był niezależnym predyktorem obecności włóknienia (włóknienie ECM wyrażone w sposób jakościowy – obecne/brak), a miR-133a był niezależnym predyktorem CVF (ilościowy sposób wyrażenia włóknienia ECM).

Niniejsze badanie jest kontynuacją wcześniejszych badań podstawowych, na podstawie których wyodrębniono mikroRNA mogące mieć znaczenie w procesie włóknienia ECM. Spośród pięciu badanych mikroRNA, tj. miR-21, miR-26, miR-29, miR-30 i miR-133a, zależności bezpośrednie (związek z włóknieniem) i bezpośrednie (związek z osoczowymi markerami włóknienia) stwierdzono dla dwóch

mikroRNA: miR-26 i miR-133a. Dla pozostałych mikroRNA, tj. miR-21, miR-29 i miR-30 obserwowano jedynie zależności z osoczwymi markerami włóknienia. Z drugiej strony, jak wykazano w innej pracy będącej częścią niniejszego cyklu publikacji, zależności między włóknieniem ECM a tzw. osoczwymi markerami włóknienia nie są jednoznaczne i z pewnością wymagają dalszych badań.

### **Potencjalne zastosowanie**

Krążące mikroRNA są bardzo stabilne we krwi, odporne na czynniki wewnętrzne (endogenne RNAzy) i zewnętrzne (np. preparatyka laboratoryjna), łatwo dostępne, a także stosunkowo tanie do oznaczania. Wszystkie te cechy powodują, że z krążącymi mikroRNA wiąże się duże nadzieje jako markery diagnostyczne, skuteczności terapii i prognostyczne. W przedstawionej pracy wykazano, że miR-26 i miR-133a są silnie związane z procesem włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej. Z pewnością powyższe obserwacje wymagają walidacji aczkolwiek można mieć nadzieję, że szczególnie miR-133a może się stać cennym markerem włóknienia w kardiomiopatii rozstrzeniowej.

Inną dziedziną badań nad mikroRNA są próby terapeutycznego oddziaływania poprzez selektywne blokowanie lub zwiększenie ekspresji (antagonistyczne mikroRNA lub silne analogi mikroRNA) co może przekładać się na korzystne efekty biologiczne. Z pewnością droga do terapeutycznego modulowania metabolizmu macierzy zewnątrzkomórkowej za pośrednictwem mikroRNA jest daleka, niemniej jednak dostarczyliśmy pewnych przesłanek, że oddziaływanie na miR-133a lub miR-26 może mieć znaczenie w kontekście włóknienia ECM u chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową.

**Szczegółowy opis metodyki i wyników pracy przedstawiono w publikacji pt.:** Rubiś P, Totoń-Zurańska J, Wiśniowska-Śmiałek S, Holcman K, Kołton-Wróż M, Wołkow P, Wypasek E, Natorska J, Rudnicka-Sosin L, Pawlak A, Kozanecki A, Podolec P. Relations between circulating microRNAs (miR-21, miR-26, miR-29, miR-30 and miR-133a), extracellular matrix fibrosis and serum markers of fibrosis in dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2017; 231: 201-6.

**Ad B.** Ocena 12-miesięcznej kinetyki osoczwych markerów włóknienia u chorych z wczesną i przewlekłą prezentacją kardiomiopatii rozstrzeniowej.

### **Wnioski**

U chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową 12-miesięczna kinetyka stężeń metabolitów syntezy kolagenu I i III przebiega w odwrotnych kierunkach, tj. synteza kolagenu I rośnie (rosnące stężenia metabolitów: PICP i PINP) a synteza kolagenu III spada (malejące stężenia metabolitów: PIIICP i PIIINP).

Czynniki kontrolujące proces włóknienia, tj. TGFβ i CTGF mają tendencję spadkową.

Istotne jest, że niezależnie od czasu trwania choroby i obecności lub braku włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej ww. tendencje osoczwych markerów włóknienia są takie same.

### **Omówienie**

Włóknienie ECM jest procesem ciągłym. Z drugiej strony analizując dostępne dane w literaturze, zwykle mamy do czynienia z pojedynczymi pomiarami, na podstawie których wyciągane są daleko idące wnioski

co do dynamiki włóknienia. Nie znając „naturalnego” przebiegu procesu włóknienia, nie można zrozumieć w pełni tego zjawiska, a co za tym idzie nie można prowadzić optymalnej terapii. W niniejszej pracy, na podstawie sekwencyjnych pomiarów (wyjściowo, w 3-cim i 12-tym miesiącu), zbadano dynamikę stężeń osoczowych markerów włóknienia, obejmujące produkty metabolizmu kolagenu I i III (PICP, PINP, PIIICP i PIIINP) oraz czynniki kontrolujące proces włóknienia (TGFβ i CTGF) u optymalnie leczonych chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową.

Na podstawie zmian stężeń produktów metabolizmu kolagenu I (PICP i PINP) stwierdzono, że synteza kolagenu I rosła w okresie obserwacji, zarówno w całej badanej grupie chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową jak i w podgrupach chorych z wczesną i przewlekłą prezentacją choroby, a także u chorych z i bez włóknienia ECM. Odwrotnie synteza kolagenu III (markery PIIICP i PIIINP) zmniejszała się w czasie obserwacji w całej badanej grupie jak również w ww. podgrupach, podzielonych na podstawie czasu trwania choroby i obecności lub braku włóknienia ECM. Interesujące jest, że pomimo, że synteza kolagenu I rosła, to osoczowe stężenia czynników regulujących (stymulujących) proces włóknienia, tj. TGFβ i CTGF homogenicznie malały w czasie obserwacji zarówno w całej grupie jak i ww. podgrupach.

Konsekwencją rosnącej syntezy kolagenu I a malejącej syntezy kolagenu III jest zmiana stosunku kolagenu I do III na korzyść kolagenu I. Odnosząc to do właściwości fizyko-chemicznych kolagenu ma to swoje istotne znaczenie w patogenezie kardiomiopatii rozstrzeniowej. Nieproporcjonalna akumulacja kolagenu I i względne zmniejszenie ilości kolagenu III w tkance mięśnia serca powoduje, że staje się ona bardziej sztywna co pogarsza podatność komory i znacznie nasila dysfunkcję rozkurczową. Sztywna komora pracuje na stromszej krzywej Franka-Starlinga co prowadzi do wysokiego ciśnienia końcowo-rozkurczowego i zwiększonego zapotrzebowania energetycznego co ostatecznie prowadzi do dalszego spadku objętości wyrzutowej serca.

Od dawna postuluje się oś regulacyjną procesu włóknienia obejmującą TGFβ i jego mediator CTGF, które stymulują syntezę kolagenu. Uzyskane przez nas wyniki, które wykazały, że stężenie obydwu cytokin zmniejsza się w okresie 12 miesięcznym, są zaskakujące i w pewnej opozycji do tej teorii. Trudno o jednoznaczne wytłumaczenie naszej obserwacji. Na pewno należy mieć na uwadze, że to przede wszystkim tkankowe TGFβ i CTGF oddziałują na lokalną produkcję kolagenu, a oznaczane przez nas osoczowe TGFβ i CTGF są jedynie niedoskonałymi markerami procesu zachodzącego w mięśniu serca. Nie można też zapomnieć, że na stężenia TGFβ i CTGF, a także metabolitów kolagenu może mieć także wpływ szereg innych zaburzeń organizmu. Z drugiej strony, jako jeden z czynników wykluczających pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową z niniejszego badania były znane choroby towarzyszące, takie jak: choroby kości i stawów, pierwotne choroby wątroby, nowotwory i miażdżyca obwodowa, które w istotny sposób modyfikują stężenia składowych tkanki łącznej i szeregu cytokin. Innym ostatnio podnoszonym argumentem jest, że to prawdopodobnie bioaktywność TGFβ a nie jego tkankowe czy osoczowe stężenie wpływa na jego funkcję kontrolującą.

### **Potencjalne zastosowanie**

Obecnie stosowane leczenie niewydolności serca jest coraz bardziej skuteczne i znacząco poprawiło przebieg i rokowanie pacjentów. Z drugiej strony ma ono niewielki wpływ na jeden z ważniejszych patomechanizmów czyli włóknienie macierzy zewnątrzkomórkowej. Dotychczasowe badania z wykorzystaniem molekuł ukierunkowanych na hamowanie włóknienia, np. anty-cytokiny TGFβ nie wykazały jednoznacznych korzyści. Niniejsze badanie dostarczyło nowych danych pozwalających

zrozumieć, że włóknienie to nie jednorazowy incydent a długotrwały i dynamiczny proces. Wydaje się, że lepsze poznanie procesu włóknienia pozwoli na opracowanie skuteczniejszych form terapii celowanej.

**Szczegółowy opis metodyki i wyników pracy przedstawiono w publikacji pt.:** Rubiś P, Wiśniowska-Smiałek S, Wypasek E, Rudnicka-Sosin L, Hlawaty M, Leśniak-Sobelga A, Kostkiewicz M, Podolec P. 12-month patterns of serum markers of collagen synthesis, transforming growth factor and connective tissue growth factor are similar in new-onset and chronic dilated cardiomyopathy in patients both with and without cardiac fibrosis. *Cytokine* 2017; 96: 217-27.

**Ad C.** Ocena zależności między włóknieniem macierzy zewnątrzkomórkowej a czasem trwania choroby i osoczymi markerami włóknienia u chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową.

### **Wnioski**

Niezależnie od obecności lub braku włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej, pacjenci z kardiomiopatią rozstrzeniową mają wyższe stężenia osoczowych markerów włóknienia w porównaniu do osób zdrowych.

Osoczone markery włóknienia nie różnicują chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową o wczesnej i przewlekłej prezentacji, a także chorych z obecnością lub brakiem włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej.

Na podstawie osoczowych markerów włóknienia nie można prognozować na temat obecności lub braku włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej.

### **Omówienie**

Patomechanizm włóknienia ECM w kardiomiopatii rozstrzeniowej jest wieloczynnikowy i nie w pełni poznany. W niniejszej pracy staraliśmy się odpowiedzieć na pytanie jaka jest rola tzw. osoczowych markerów włóknienia, do których należą: produkty metabolizmu kolagenu (N-końcowe pro-peptydy kolagenu I i III – PINP i PIIIP oraz C-końcowe pro-peptydy – PICP i PIIICP) oraz czynniki kontrolujące proces włóknienia – TGF $\beta$  i CTGF w patogenezie włóknienia ECM.

W badanej grupie 70 chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową, na podstawie biopsji mięśnia serca istotne włóknienie ECM stwierdziliśmy u 24 (34,3%) pacjentów, w tym u 7 (20%) z 35 chorych z wczesną postacią choroby i 17 (48,6%) spośród 35 z przewlekłą kardiomiopatią (różnica istotna statystycznie,  $p < 0.05$ ). Nie było dużym zaskoczeniem stwierdzenie, że osoczone stężenia większości badanych markerów włóknienia różniły się między pacjentami a zdrowymi ochotnikami. Zaskakujący był jednak fakt, że wszystkie stężenia markerów włóknienia nie różniły się między chorymi z wczesną i przewlekłą prezentacją choroby, pacjentami podzielonymi względem obecności lub braku włóknienia, a także przy podziale na cztery grupy: wczesnej kardiomiopatii rozstrzeniowej z i bez włóknienia oraz przewlekłej kardiomiopatii z i bez włóknienia. Spośród wielu klinicznych, echokardiograficznych czy biochemicznych parametrów, jedynie czas trwania choroby korelował z włóknieniem ECM. Natomiast żaden z osoczowych markerów włóknienia nie korelował z włóknieniem ECM. Konsekwencją tego był brak jakiegokolwiek wartości predykcyjnej ww. osoczowych markerów włóknienia w przewidywaniu obecności włóknienia ECM.



Stwierdzony brak zależności między osoczowymi markerami włóknienia a włóknieniem ECM nie jest z pewnością ostatecznym rozstrzygnięciem roli ww. wskaźników w patomechanizmie kardiomiopatii rozstrzeniowej. Z drugiej strony badania z tego zakresu są nieliczne i co istotne często obejmujące heterogenne grupy chorych z niewydolnością serca. W naszej pracy badaliśmy homogeną grupę chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową, pozostającą na optymalnym leczeniu niewydolności serca, zrekrutowanych w okresie nieco powyżej roku, co pozwala na wnioskowanie o poprawności metodologicznej i wiarygodności uzyskanych wyników.

### **Potencjalne zastosowanie**

Osoczowe markery włóknienia są łatwo dostępnymi i stosunkowo tanimi parametrami, które mogłyby być wykorzystywane jako markery diagnostyczne lub prognostyczne. Dlatego też markery włóknienia są intensywnie badane w wielu chorobach układu sercowo-naczyniowego, w tym w niewydolności serca i kardiomiopatii rozstrzeniowej.

Niniejsza praca wskazuje na brak znaczenia diagnostycznego i predykcyjnego ww. osoczowych markerów włóknienia na proces włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej. Badanie można w pewnym sensie interpretować jako „negatywne”, niemniej jednak dostarczyło wiarygodnych danych, co może w przyszłości wskazać nowe kierunki badań nad włóknieniem macierzy zewnątrzkomórkowej w kardiomiopatii rozstrzeniowej.

**Szczegółowy opis metodyki i wyników pracy przedstawiono w publikacji pt.:** Rubiś P, Wiśniowska-Śmialek S, Wypasek E, Biernacka-Fijalkowska B, Rudnicka-Sosin L, Dziewiecka E, Faltyn P, Khachatryan L, Karabinowska A, Kozanecki A, Tomkiewicz-Pajak L, Podolec P. Fibrosis of extracellular matrix is related to the duration of the disease but is unrelated to the dynamics of collagen metabolism in dilated cardiomyopathy. *Inflamm Res* 2016; 65:941-49.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

\* w przypadku, gdy osiągnięciem tym jest praca/ prace wspólne, należy przedstawić oświadczenia wszystkich jej współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie

### Autor

- I. 29 prac oryginalnych, w tym 22 posiadających *Impact Factor*
- II. 12 opisów przypadków, w tym 2 posiadających *Impact Factor*
- III. 3 prace pogładowe
- IV. 10 rozdziałów w podręcznikach
- V. 1 praca popularno-naukowa posiadająca *Impact Factor*
- VI. 41 streszczeń ze zjazdów, w tym 37 ze zjazdów międzynarodowych
- VII. 2 publikacje pełno-tekstowe w suplementach czasopism
- VIII. 1 list do redakcji posiadający *Impact Factor*
- IX. 2 publikacje, posiadające *Impact Factor*, z udziałem autora w badaniu wielośrodkowym

### Wskaźniki bibliometryczne

- Sumaryczny *Impact Factor* – 49,339
- Łączna punktacja MNiSW – 492
- Całkowita liczba cytowań – 141 (na podstawie Web of Science Core Collection – „Basic Search” 1945-2017 z dn. 20.06.2017 r.)
- Indeks Hirsha – 7 (na podstawie Web of Science Core Collection – „Basic Search” 1945-2017 z dn. 20.06.2017 r.)

### Projekty badawcze

1. „Rola wybranych mikroRNA (miR-21, miR-29, miR-30 i miR-133a) w regulacji ekspresji transformującego czynnika wzrostu beta w patogenezie włóknienia macierzy zewnątrzkomórkowej u chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową”. 2014-2017, grant otrzymany w ramach konkursu SONATA-5, ze środków Narodowego Centrum Nauki (decyzja nr DEC-2013/09/D/NZ5/00252), kierownik projektu.
2. „Rola macierzy zewnątrzkomórkowej w patogenezie kardiomiopatii rozstrzeniowej”. 2014-2017, projekt w ramach dotacji statutowej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum (numer grantu K/ZDS/004596), autor i główny wykonawca.
3. „Czy morfometria kardiomiocytów zależy od etiologii kardiomiopatii rozstrzeniowej?”. 2017-2019, projekt w ramach dotacji statutowej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum (numer grantu K/ZDS/007192), autor i główny wykonawca.

4. „Ocena przydatności echokardiograficznego testu wysiłkowego w diagnostyce chorych z niewydolnością serca”. 2006-2009, projekt w ramach dotacji statutowej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum (numer projektu K/2DS/000616), autor i główny wykonawca projektu jako części przewodu doktorskiego.
5. „Ocena zależności pomiędzy czynnością śródbłonna, sztywnością aorty a stopniem zaawansowania miażdżycy”. 2006-2009, projekt przyznany przez Komitet Badań Naukowych (numer projektu KBN 2 P05B 150 30), wykonawca.
6. „Miażdżycowe zwężenia tętnic nerkowych a choroba niedokrwienna serca. Wpływ przezskórnej angioplastyki tętnic nerkowych na przebieg choroby nadciśnieniowej i czynność nerek”. 2006-2009, projekt przyznany przez Komitet Badań Naukowych (numer projektu KBN 2 P05B 015 28), wykonawca.
7. „Ocena kliniczna perfuzji i żywotności mięśnia sercowego u chorych z ostrym zawałem serca leczonych metodą angioplastyki przezskórnej bezpośredniej i torowanej”. 2005-2008, projekt przyznany przez Komitet Badań Naukowych (numer projektu KBN 3 P05B 017 23), wykonawca.
8. „Strategia postępowania, wskazania i wyniki leczenia zwężeń tętnic podobojczykowych i kręgowych przezskórną angioplastyką u chorych z chorobą niedokrwienną”. 2008-2010, projekt przyznany przez Komitet Badań Naukowych (numer projektu KBN 2 P05B 09330), wykonawca.
9. „Zmiany w układzie krążenia u chorych z toczeniem rumieniowatym układowym - wpływ leczenia statynami”. 2008-2010, projekt przyznany przez Komitet Badań Naukowych (numer projektu KBN N402 012), wykonawca.
10. „Utworzenie europejskiej sieci współpracy w zakresie tzw. "sierocych" chorób kardiologicznych”. Numer projektu: MRPO. 08.02.00-12-424/10. Źródło finansowania: Program Operacyjny MRPO – Małopolski Regionalny Program Operacyjny. 8. Współpraca międzyregionalna, 8.2. Budowanie pozycji Małopolski w europejskich sieciach współpracy. Krakowski Specjalistyczny Szpital im. Jana Pawła II ul. Prądnicka 80; 31-202 Kraków. Charakter udziału: Kierownik Podzespołu Koordynującego ds. Ciężkiej Niewydolności Serca.

**Tematyka pozostałych prac badawczych:**

- znaczenie prognostyczne echokardiografii spoczynkowej i wysiłkowej w niewydolności serca
- modele predykcyjne nagłego zgonu sercowego w kardiomiopatii przerostowej
- diagnostyka i terapia zapalenia mięśnia serca
- zaburzenia czynności śródbłonna i sztywność tętnic u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca

- miażdżycy wielopoziomowa – diagnostyka i terapia w nadciśnieniu naczyniowo-nerkowym spowodowanym zwężeniem tętnic nerkowych i rola angioplastyki w zwężeniach tętnic podobojczykowych i kręgowych.

Pozostałe osiągnięcia przedstawiono w załączniku pt. " Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki".

Kraków, dnia 12/07/2017

Paweł Rubis