UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI

Zakład Kardiologii Nieinwazyjnej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
90-549 Łódź, ul. Żeromskiego 113
Tel. 42 639 35 71

Kierownik Zakładu: Prof. dr hab. med. Małgorzata Lelonek FESC

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. Katarzyny Kodziszewskej

pt. „Układ peptydów natriuretycznych - poziom ekspresji i ocena funkcjonalna w niewydolności mięśnia serca w modelu ludzkim"

Patofizjologia niewydolności serca jest procesem bardzo złożonym i obejmuje m. in. aktywację układu RAA i współczulnego układu nerwowego oraz aktywację neurohumoralną. Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań pozwoliły na wprowadzenie do terapii niewydolności serca molekuły oparte o patomechanizm i pozwalające modulować przebieg schorzenia, co było przełomem w leczeniu tej jednostki chorobowej. Aczkolwiek rokowanie w niewydolności serca pozostaje nadal poważne. Wydaje się, że właśnie złożoność procesów patofizjologicznych i wiele dotąd niepoznanych patomechanizmów powoduje, że ciągle nie mamy złotego środka dedykowanego tej jednostce chorobowej.

Najmłodszym układem, który ciągle podlega badaniom i poszukiwaniom jest układ peptydów natriuretycznych. Pomimo licznych prób zastosowania peptydów natriuretycznych i ich syntetycznych analogów w terapii niewydolności serca, nadal pozostaje wiele wątpliwości dotyczących zarówno zmian ekspresji, jak i funkcji tego układu w niewydolnym sercu

człowieka. Aktualny stan wiedzy na temat peptydów natriuretycznych można przedstawić następująco:

- ✓ W warunkach fizjologicznych peptydy natriuretyczne biorą udział w regulacji układu krążenia, natomiast w warunkach patologicznych wywierają działanie antyprzerostowe, działają antagonistycznie do osi RAA, zapobiegają przebudowie mięśnia sercowego i regulują napięcie ścian naczyń. Działają na drodze wiązania z odpowiednimi receptorami błonowymi i aktywując komórkowe drogi sygnalizacyjne (wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia cGMP, modulacja stężenia cAMP i IP_3).
- ✓ W niewydolności serca dochodzi do „regulacji w górę" układu peptydów natriuretycznych, co jest wyrażone przez wzrost ich stężeń i uznane za korzystny mechanizm regulacyjny.
- ✓ Jednakże pomimo wzrostu poziomu krążących peptydów natriuretycznych w niewydolności serca, nie wywierają one oczekiwanych efektów protekcyjnych na układ sercowo-naczyniowy. Podnosi się następujące przesłanki dla tego zjawiska:

- o zaburzennia ekspresji receptorów błonowych dla peptydów natriuretycznych,
- o upośledzenie funkcji receptorów i wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału,
- o zwiększoną degradację peptydów natriuretycznych przez obojętną endopeptydazę i receptory klirensowe w efekcie zmian ekspresji i/lub aktywności tych dwóch dróg eliminacji.

Do nurtu tej tematyki badawczej należy zaliczyć rozprawę doktorską lek. Katarzyny Kodziszewskiej.

Licząca 108 stron praca ma typowy układ i strukturę podziału treści.

We wstępie liczącym 29 stron Doktorantka omawia: patofizjologię i epidemiologię niewydolności serca, dotychczasowe teorie leczenia i nowe koncepcje terapii, zjawisko przebudowy mięśnia sercowego w NS, peptydy natriuretyczne typu A, B, C i D oraz receptory dla peptydów natriuretycznych. Doktorantka opisuje znaczenie neutralnej endopeptydazy oraz próby klinicznego wykorzystania potencjału terapeutycznego poszczególnych składników układu peptydów natriuretycznych.

Cele pracy są bardzo ambitne, prawidłowo sformułowane, wymagały współpracy z ośrodkami badań molekularnych. W mojej opinii cele są na tyle rozbudowane, że mogły stanowić warsztat dla rozprawy habilitacyjnej. Natomiast nie znalazłam w pracy wyodrębnionego rozdziału hipotezy badawczej.

W rozdziale „Materiał i metodyka" opisano poprawnie grupę badaną 43 chorych poddawanych operacji przeszczepu serca, którzy wyrazili pisemną uświadomioną zgodę na udział w badaniu. Kontrole stanowiły serca pobrane od 12 zmarłych, których serca z różnych przyczyn nie zostały przeznaczone do przeszczepu. Dodatkowo Doktorantka badała preparaty aorty uzyskane od 17 pacjentów z niewydolnością serca poddawanych transplantacji oraz od 8 zmarłych, którzy nie byli dawcami.

Metodyka oznaczeń biochemicznych (ekspresji i aktywności peptydów natriuretycznych, receptorów dla peptydów natriuretycznych na poziomie mRNA i neutralnej endopeptydazy) i histologicznych uwzględniających rozległość procesów włóknienia oraz przeprowadzonych analiz statystycznych została szczegółowo opisana. Dobór metod i narzędzi badawczych jest trafny a ich zastosowanie prawidłowe. Jednak brakuje wskazania zmiennych o nie-normalnym rozkładzie statystycznym. Dodatkowo grupy badane mogłyby być bardziej liczebne, co podniosłoby rangę pracy, aczkolwiek zdaję sobie sprawę z trudności zebrania takiego materiału.

Wyniki zostały przedstawione przejrzyście w formie tekstowej oraz w postaci tabel i rycin wg prowadzonych analiz: serce wydolne vs serce niewydolne oraz etiologia niedokrwienna vs nie-niedokrwienna NS.

Z najważniejszych wyników pracy warto podkreślić, że w niewydolnym mięśniu sercowym na poziomie mRNA podwyższoną ekspresja miały ANP i BNP, podczas gdy ekspresja CNP była zmniejszona w porównaniu do poziomu ekspresji w sercu wydolnym. Stężenie oznaczanych 3 hormonów natriuretycznych w mięśniu sercowym na poziomie białkowym w niewydolnej lewej komorze serca uległa istotnemu zwiększeniu. Natomiast Doktorantka nie stwierdziła istotnych różnic w zakresie ekspresji ANP, BNP i CNP na poziomie mRNA pomiędzy sercami niewydolnymi w przebiegu kardiomiopatii niedokrwiennej vs nie-niedokrwiennej oraz w ekspresji tych peptydów na poziomie białkowym w porównaniach wg etiologii niewydolności serca.

W badanym materiale ekspresja receptorów NPR-A i NPR-B na poziomie mRNA nie uległa zmianie w całej grupie serc niewydolnych w porównaniu z sercami wydolnymi. Udokumentowano, że ekspresja NPR-C w niewydolnym sercu na poziomie mRNA uległa zwiększeniu, podczas gdy na poziomie białka ekspresja uległa redukcji w porównaniu do serc wydolnych.

Nie obserwowano wpływu etiologii niewydolności serca na ekspresję peptydów natriuretycznych, funkcję i ekspresję receptorów NPR-A i NPR-B lecz na ekspresję NPR-C i ekspresję komponentów układu klirensowego.

Oceniana aktywność podstawowa cyklazy guanylowej w sercach wydolnych i niewydolnych nie różniła się. Jednak funkcja receptora NPR-A, mierzona poziomem syntezy cGMP po podaniu ANP w sercu niewydolnym była istotnie zmniejszona w porównaniu do

zdrowego serca, a funkcja receptora NPR-B po podaniu CNP w niewydolnym serca pozostawała niezmieniona.

W pracy nie oceniano ekspresji NEP na poziomie mRNA. W ocenie na poziomie białkowym stwierdzono znamienne wyższą ekspresję NEP dla grupy badanej serc niewydolnych w stosunku do serc wydolnych oraz dla kardiomiopatii niedokrwiennej w porównaniu do grupy o etiologii nie-niedokrwiennej. Z kolei aktywność neutralnej endopeptydazy nie różniła się istotnie w zależności od etiologii niewydolności serca, nie stwierdzono również różnic pomiędzy grupami względem wartości współczynnika NEP aktywność/ekspresja.

Dyskusję czyta się z zainteresowaniem. Uzyskane wyniki doktorant odnosi prawidłowo do cytowanej literatury. Aczkolwiek użycie określenia „całościowe scharakteryzowanie zmian zachodzących w niewydolnym serca", odnoszące się do tej pracy badawczej wydaję się zbyt śmiałym sformułowaniem.

Wnioski są sprecyzowane prawidłowo i korespondują do wytyczonych celów.

O dojrzałości rozprawy świadczy fakt, że doktorant widzi ograniczenia swojej pracy i je przedstawia.

Piśmiennictwo ma układ typowy, jest dopracowane, dobrze dobrane i wykorzystane, zawiera aktualne artykuły w tym również z polskich ośrodków.

Pracę charakteryzuje poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna.

Pragnę podkreślić dużą wartość pracy w aspekcie przeprowadzonych licznych badań molekularnych na modelu ludzkim. Dotychczasowe prace innych ośrodków to głównie modele zwierzęce. Jednakże proponuję wzbogacić materiał o dane kliniczne z przebiegu niewydolności serca, jak np. czas trwania choroby, liczba hospitalizacji z powodu niewydolności serca

w ostatnim roku, % docelowej dawki standardowej terapii niewydolności serca stosowanej w badanej grupie, czy zastosowanie CRT, co ma udokumentowane działanie o typie reversal remodeling. Być może informacje te przyczyniłyby się do uzyskanie kolejnych ciekawych wniosków.

Natomiast na potrzeby obrony doktoratu proszę o przedstawienie własnej opinii Doktorantki na temat zastosowania uzyskanych wyników w aspekcie możliwości terapii pacjentów z niewydolnością serca.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Kodziszewskiej stanowi samodzielne rozwiązanie problemu naukowego.

Należy podkreślić wybór trudnego tematu, z którym Doktorantka się zmierzyła, wykonanie żmudnej pracy oraz umiejętność współpracy wieloośrodkowej, która umożliwiła zrealizowanie badań. Merytorycznie i metodologicznie wysoko oceniam pracę, problematyka badawcza omawianego zagadnienia jest oryginalna, aktualna oraz istotna klinicznie.

Wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Kardiologii im. Prymasa Tysiąclecia Stefana Kardynała Wyszyńskiego o dopuszczenie lek. med. Katarzyny Kodziszewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W związku z opublikowaniem wyników pracy w czasopiśmie z Impact Factor wnoszę również o *wyróżnienie rozprawy*.

KIEROWNIK
Zakładu Kardiologii Nieinwazyjnej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Prof. dr hab. med. Małgorzata Lelonek FESC

Prof. dr hab. med. Małgorzata Lelonek
Kierownik Zakładu Kardiologii Nieinwazyjnej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Łódź, 12.10.2018r.