

Katedra i Zakład Fizjologii
Wydział Nauk Medycznych
w Zabrze
Śląski Uniwersytet
Medyczny
w Katowicach

41-818 Zabrze,
ul. Jordana 19
www.sum.edu.pl

KIEROWNIK
prof. dr hab. n. med. Jerzy Jochem
tel.: (+48 32) 272 23 62

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 272 23 62
fizjozab@sum.edu.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk
o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lekarza Adriana Barzyca, pt.

*„Wpływ dowieńcowego podania diphenyliodonium oraz L-argininy
w buforze o kwasowym odczynie na wielkość blizny pozawałowej
i występowanie zaburzeń rytmu serca u szczurów z niedokrwieniem
i reperfuzją mięśnia sercowego”*, przygotowanej pod kierunkiem

Pani prof. dr hab. n. med. Agnieszki Cudnoch-Jędrzejewskiej (promotora)

oraz

Pani dr n. med. Małgorzaty Wojciechowskiej (promotora pomocniczego)

w Katedrze i Zakładzie Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. Adriana Barzyca jest pracą wartościową zarówno pod względem poznawczym, jak i praktycznym. Według opublikowanego przez Instytut Zdrowia Publicznego PZH – Państwowy Instytut Badawczy najnowszego raportu „Sytuacja zdrowotna ludności Polski i jej uwarunkowania 2022”, choroby układu krążenia były w 2021 r. odpowiedzialne za 34,8% wszystkich zgonów. Na kolejnych miejscach wymieniono nowotwory złośliwe (18%) oraz COVID-19 (17,9%).

Biorąc pod uwagę, że wśród chorób układu krążenia-przyczyn zgonów, które mogą podlegać leczeniu z dobrym efektem, wiodące miejsce zajmuje choroba niedokrwienna serca, wszystkie próby poprawy skuteczności jej leczenia są niezwykle wartościowe. Od wielu lat w leczeniu ostrych zespołów wieńcowych stosowany jest zabieg angioplastyki wieńcowej, polegający najczęściej na udrożnieniu zamkniętej tętnicy wieńcowej. Nagłe przywrócenie przepływu krwi w obszarze wcześniej niedokrwionym może stać się jednak przyczyną uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego. Może być ono przyczyną nie tylko powiększenia obszaru martwicy mięśnia sercowego, ale także zagrażających życiu komorowych zaburzeń rytmu serca. Z tego względu podjęte przez Doktoranta badania mogą mieć w przyszłości potencjalne znaczenie kliniczne.

Rozprawa doktorska lek. Adriana Barzyca ma układ klasyczny. Podzielona została na 9 rozdziałów oraz liczne podrozdziały (rozdział *Piśmiennictwo* jest dziewiątym rozdziałem), zawiera 42 ryciny i 2 tabele.

W liczącym 22 strony *Wstępie* rozprawy Autor przedstawił podstawowe mechanizmy odpowiedzialne za występowanie uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego, w tym zawał mięśnia sercowego, przykurcz reperfuzyjny, przeładowanie kardiomiocytów jonami wapnia, przykurcz stężeniowy, przetrwałe otwarcie megakanałów mitochondrialnych, mechanizmy stresu oksydacyjnego, zjawisko *no-reflow* oraz rozwój stanu zapalnego. Na koniec *Wstępu* Doktorant przedstawił modele doświadczalne zawału mięśnia sercowego. Podkreślić należy, iż autorskie ryciny zamieszczone w tym rozdziale doskonale obrazują opisywane mechanizmy.

Celem pracy było zbadanie wpływu dowieńcowego podawania diphenyliodonium, L-argininy, buforu o kwasowym odczynie oraz ich kombinacji na częstość występowania migotania komór oraz wielkość obszar martwicy pozawałowej u szczurów. Istotą podawania buforu o kwasowym odczynie miało być zahamowanie przetrwałego otwarcia megakanałów mitochondrialnych, diphenyliodonium, jako inhibitor układu oksydazy ksantynowej, hamuje z kolei wytwarzanie wolnych rodników tlenowych, a ponadto produkcję selektyny E i ICAM-1. L-Arginina stosowana była w celu marginalizacji negatywnego wpływu diphenyliodonium na syntezę NO.

Na przeprowadzenie badań uzyskano stosowną zgodę II Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Warszawie, której kopia stanowi załącznik do rozprawy. Badania przeprowadzone zostały na sercach 65 dorosłych szczurów samców szczepu Sprague-Dawley pochodzących z Centralnego Laboratorium Zwierząt Doświadczalnych WUM, przydzielonych losowo do jednej z 8 grup. Według protokołu badawczego, po podłączeniu serca do systemu Langendorffa we wszystkich grupach pierwsze 10 minut doświadczenia stanowiło okres stabilizacji, a następnie przepływ buforu w systemie był wyłączany na 15 minut (całkowite niedokrwienie mięśnia sercowego). W czasie pierwszych trzech minut reperfuzji bufor był podawany za pośrednictwem oddzielnego dojścia, a na kolejne 42 minuty powracano do pierwotnego źródła buforu. W poszczególnych grupach zastosowano bufor o kwasowym odczynie, dodatek diphenyliodonium oraz L-argininy w różnych kombinacjach. Należy podkreślić, że bogata dokumentacja zdjęciowa oraz tabela z wykazem grup stanowią dodatkowe potwierdzenie rzetelnie przeprowadzonych badań.

Ocenić podlegały parametry hemodynamiczne (średnie ciśnienie rozkurczowe w lewej komorze podczas stabilizacji oraz z 15., 30. i 45. min reperfuzji), elektrofizjologiczne (czas od początku reperfuzji do przywrócenia fizjologicznego rytmu serca, liczba epizodów migotania komór), histologiczne (wskaźnik wielkości obszaru objętego zawałem) oraz biochemiczne (stężenie kaspazy-3 i kinazy 3-fosfatydyloinozytolu względem białka referencyjnego β -aktyny w segmentach koniuszkowych mięśnia sercowego). Uzyskane wyniki poddane zostały analizie statystycznej, przy użyciu właściwych metod.

Doktorant wykazał, że średnie różnice między wartościami ciśnienia rozkurczowego w lewej komorze w wybranych punktach czasowych okresu reperfuzji były niższe w części grup, w których stosowano bufor o kwasowym odczynie, diphenyliodonium oraz L-argininę w porównaniu do grupy kontrolnej. W grupach tych stwierdzono również mniejszy niż w grupie kontrolnej średni wskaźnik wielkości obszaru objętego zawałem. Co więcej, w części grup badanych wykazano niższe stężenie kaspazy-3 i kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (względem β -aktyny) w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie wykazano natomiast różnic pomiędzy grupami w zakresie ciśnienia rozkurczowego w lewej komorze w okresie stabilizacji oraz średniego czasu do przywrócenia fizjologicznego rytmu serca.

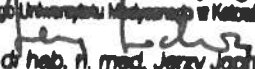
W rozdziale *Dyskusja i omówienie wyników* Doktorant skonfrontował uzyskane wyniki z odpowiednimi danymi z aktualnego piśmiennictwa. Rozdział ten świadczy o dobrym przygotowaniu teoretycznym Autora do podjętego tematu badań. Za bardzo ważny uważam rozdział *Ograniczenia pracy*, który moim zdaniem należałoby raczej dołączyć do *Dyskusji*. Doktorant słusznie zdaje sobie sprawę, że pewnym ograniczeniem metodologicznym badań było wykorzystanie systemu Langendorffa, pozwalającego na pracę serca w warunkach *ex vivo*. Zastosowanie tego modelu wiązało się również z brakiem endogennych mechanizmów regulacyjnych, tj. regulacji nerwowej (poprzez układ wegetatywny) oraz humoralnej. Nie było również możliwości długotrwałej obserwacji czynności elektrycznej serca czy hemodynamiki lewej komory. Wreszcie, jak zauważa Autor, niewielka liczba epizodów migotania komór w poszczególnych grupach uniemożliwiła przeprowadzenie analizy statystycznej tego parametru. Należy jednak z naciskiem podkreślić, że świadomość wymienionych przez Doktoranta ograniczeń pracy powinna stanowić zachętę do dalszych badań w tym zakresie, być może w oparciu o inny model doświadczalny.

Doktorant zacytował w pracy aż 270 pozycji piśmiennictwa, które uwzględniają publikacje dotyczące poruszanego zagadnienia; warto podkreślić, że w wielu przypadkach Autor pracy sięgnął do starszych prac źródłowych, a nie posiłkował się współcześnie wydanymi pracami przeglądowymi.

Wnioski pracy są konsekwencją analizy uzyskanych wyników. Z punktu widzenia kardiologa-praktyka za najważniejsze uznałbym wykazanie 1) kardioprotekcyjnego wpływu zastosowanych substancji, czego przejawem było zmniejszenie obszaru martwicy mięśnia sercowego w użytym modelu doświadczalnym oraz 2) zmniejszenie stężenia kaspazy-3 (należącej do kaspaz wykonawczych w przebiegu apoptozy) oraz kinazy 3-fosfatydiloinozytydu (czynnika aktywującego kinazę serynowo-treoninową mTOR) w mięśniu sercowym.

Na zakończenie warto podkreślić, że rozprawa doktorska powstała w ramach projektu „TIME 2 MUW doskonałość dydaktyczna szansą rozwoju Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego” współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój na lata 2014-2020.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Adriana Barzyca, pt. „*Wpływ dowieńcowego podania diphenyliodonium oraz L-argininy w buforze o kwasowym odczynie na wielkość blizny pozawałowej i występowanie zaburzeń rytmu serca u szczurów z niedokrwieniem i reperfuzją mięśnia sercowego*” spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z powyższym mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Adriana Barzyca do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto mając na uwadze 1) rozległość i pracochłonność przeprowadzonych badań, 2) zastosowanie nowoczesnych metod badawczych oraz 3) znaczenie uzyskanych wyników, mogących mieć w przyszłości zastosowanie kliniczne, wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Fizjologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Jerzy Jochem

Zabrze, dnia 28 lipca 2023 roku

prof. dr hab. n. med. Jerzy Jochem