

lek. Aleksandra Maria Sobiborowicz-Sadowska

***Ocena roli neprylizyny i farmakologicznego zahamowania jej
aktywności w zwierzęcym modelu kardiotoksyczności antracyklin***

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska

Promotor pomocniczy: dr n. med. Katarzyna Kamińska

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej

Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023 r.

STRESZCZENIE

Wstęp: Antracykliny to grupa leków przeciwnowotworowych szeroko wykorzystywanych w praktyce klinicznej, których stosowanie wiąże się z ryzykiem wystąpienia kardi toksyczności (AIC), prowadzącej do niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową (HFrEF). Celem prewencji AIC poszukiwane są nowe terapie mające na celu ograniczenie ryzyka wystąpienia tego działania niepożądanego, a także biomarkery pozwalające na oszacowanie ryzyka AIC oraz na jego późniejsze monitorowanie. W związku z korzystnym działaniem nowego połączenia lekowego: antagonisty receptora angiotensyny II typu 1 i inhibitora neprylizyny (ARNI) wśród pacjentów z HFrEF, rola neprylizyny (NEP) oraz jej wolnej postaci (sNEP) w patogenezie chorób układu krążenia cieszy się w ostatnich latach ponownie zainteresowaniem badaczy. W badaniach w zwierzęcych modelach AIC wykazano, że zastosowanie ARNI w wysokiej dawce wykazuje działanie ochronne przed wystąpieniem dysfunkcji skurczowej lewej komory serca (LV). Nie oceniono jednak, czy działanie to pozostaje obecne przy zastosowaniu niższych dawek ARNI. Ponadto, dotychczas nie zbadano, czy w ramach AIC dochodzi do zmian aktywności, ekspresji i poziomu NEP w obrębie LV, a także czy sNEP może stanowić użyteczny biomarker ryzyka wystąpienia AIC.

Cel pracy: Pierwszym celem pracy była ocena zmian aktywności, ekspresji i poziomu NEP w obrębie LV oraz aktywności i stężenia sNEP w surowicy zwierząt doświadczalnych w modelu ostrej (Część Ia) oraz przewlekłej (Część Ib) AIC. Drugi cel pracy stanowiła ocena wpływu zastosowania ARNI w niskiej dawce w zwierzęcym modelu przewlekłej AIC.

Material i metody: W badaniu wykorzystano 12-tygodniowe szczury szczepu Sprague-Dawley (SPRD). Zwierzęta w Części Ia otrzymały jednorazową dootrzewnową (*i.p.*) iniekcję doksorubicyny (DOX) i zostały uśmiercone w ciągu 24 godzin celem pobrania LV i krwi do dalszych analiz. Zwierzęta w Części Ib oraz Części II otrzymały cztery iniekcje DOX *i.p.* w odstępach tygodniowych i zostały uśmiercone po upływie tygodnia od ostatniej iniekcji. W Części II zwierzętom codziennie podawano ponadto dożołądkowo (*p.o.*) ARNI w dawce 20 mg/kg masy ciała. W Części I badania grupy kontrolne stanowiły zwierzęta otrzymujące iniekcje 0,9% chlorku sodu (NaCl) *i.p.*, natomiast w Części II – DOX *i.p.* oraz 0,9% NaCl *p.o.* U wszystkich szczurów w 1 i ostatniej dobie doświadczenia wykonano badanie echokardiograficzne. Fragmenty LV poddane zostały ocenie histopatologicznej. W pozostałych fragmentach LV pochodzących od zwierząt z Części I zmierzono ekspresję, poziom i aktywność NEP, natomiast w surowicy – stężenie sNEP. W surowicy zwierząt z Części II oceniono dodatkowo stężenie sercowej troponiny I (cTnI) oraz N-końcowego propeptydu peptydu natriuretycznego typu B (NT-proBNP).

Wyniki: W Części I badania podanie DOX spowodowało istotne obniżenie echokardiograficznych parametrów wydolności skurczowej LV oraz wystąpienie w jej obrębie charakterystycznych dla AIC zmian patomorfologicznych. W modelu ostrej AIC w obrębie LV zaobserwowano istotnie niższą aktywność NEP, natomiast w modelu przewlekłej AIC – istotnie niższy poziom białka NEP. Nie zaobserwowano różnic w średnich wartościach stężenia sNEP w surowicy między grupą kontrolną a doświadczalną w obu modelach. W modelu ostrej AIC stężenie sNEP w surowicy wykazywało silną dodatnią korelację z nasileniem zmian degeneracyjnych kardiomiocytów w badaniu histopatologicznym. W modelu przewlekłej AIC wystąpiła silna ujemna korelacja między stężeniem sNEP w surowicy a objętością wyrzutową i pojemnością minutową serca, bez istotnych zależności z histopatologicznymi wykładnikami uszkodzenia miokardium. Zależności te nie były obserwowane w grupach kontrolnych. W Części II, w ostatniej dobie badania, u zwierząt otrzymujących ARNI zaobserwowano istotnie wyższe wartości echokardiograficznych parametrów wydolności skurczowej LV oraz istotnie mniejsze nasilenie zmian patomorfologicznych w jej obrębie, a także niższe stężenie cTnI w surowicy, w porównaniu do grupy kontrolnej.

Wnioski: DOX wywiera hamujące działanie na aktywność enzymatyczną NEP w LV w szczurzym modelu ostrej AIC oraz poziom białka NEP w szczurzym modelu przewlekłej AIC. W obu modelach zmiany te nie wydają się wpływać na stopień nasilenia AIC. W związku z obserwowanymi zależnościami między stężeniem sNEP w surowicy a nasileniem zmian degeneracyjnych kardiomiocytów (model ostrej AIC) oraz stopniem obniżenia niektórych parametrów echokardiograficznych (model przewlekłej AIC) wydaje się, że krążąca we krwi sNEP uczestniczy w procesach patofizjologicznych związanych z rozwojem AIC. Jednak w świetle braku zmian w zakresie średnich wartości stężenia sNEP w surowicy zwierząt otrzymujących DOX, sNEP nie stanowi prawdopodobnie użytecznego biomarkera w AIC. ARNI w niskiej dawce wydaje się mieć ochronne działanie przed wystąpieniem uszkodzenia mięśnia sercowego związanego z przewlekłą podażą DOX u szczurów SPRD.

Podsumowanie: W pracy doktorskiej wykazano, że neprylizyna odgrywa rolę w rozwoju zwierzęcego modelu kardiotoksyczności antracyklin. ARNI w niskiej może mieć uzasadnienie w pierwotnej profilaktyce AIC u pacjentów onkologicznych przy braku tolerancji wysokich dawek leku.