

lek. Michał Kowara

**„Czynniki regulujące strukturę macierzy
zewnątrzkomórkowej w obrębie blaszki miażdżycowej”**

**“The factors regulating extracellular matrix structure
within atherosclerotic plaque”**

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

Promotor: prof. dr hab. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2019

Autor: *M. Kowara*

Promotor: *A. Cudnoch-Jędrzejewska*

1. Streszczenie (wersja polska)

Wstęp

Naczynia krwionośne w organizmie człowieka wraz z upływem lat ulegają zmianom degeneracyjnym. Jedną z form takich zmian jest powstawanie i rozwój blaszek miażdżycowych, które stopniowo zwężają światło naczynia. Jeśli proces ten dotyczy tętnic wieńcowych konsekwencją jest stopniowe ograniczenie rezerwy wieńcowej, wystąpienie choroby niedokrwiennej serca a nawet ostrego zespołu wieńcowego. W tym kontekście niezwykle istotną kwestią jest charakter blaszki miażdżycowej – jej stabilność bądź niestabilność. Stabilne blaszki miażdżycowe zwężają światło naczynia stopniowo i są mało podatne na rozerwanie przez strumień przepływającej krwi. Inaczej niż w przypadku niestabilnych blaszek miażdżycowych, których struktura determinuje podatność na rozerwanie, co prowadzi do powstania skrzepliny, a w konsekwencji do znacznego zwężenia bądź nawet całkowitego zamknięcia tętnicy wieńcowej. Rozerwanie blaszki miażdżycowej manifestuje się klinicznie jako ostry zespół wieńcowy, natomiast jeśli w przebiegu ostrego zespołu wieńcowego dochodzi do martwicy komórek mięśnia sercowego, to taki stan określa się jako zawał serca. Kwestią kluczową jest odkrycie szlaków przemian wewnętrz- i zewnątrzkomórkowych, które w sposób bezpośredni wprowadzają blaszkę miażdżycową na tor destabilizacji i podtrzymują ten proces. Z uwagi na rolę macierzy zewnątrzkomórkowej w tworzeniu i utrzymywaniu struktury blaszki miażdżycowej w mojej pracy doktorskiej skoncentrowałem się na białkach strukturalnych oraz regulatorowych macierzy zewnątrzkomórkowej, a także na cząsteczkach mikro-RNA regulujących ich ekspresję.

Cele

1. Podsumowanie wiedzy na temat czynników regulujących białka strukturalne i regulatorowe macierzy zewnątrzkomórkowej, ze szczególnym uwzględnieniem cząsteczek mikro-RNA.
2. Ocena poziomu ekspresji cząsteczki hsa-miR-21-5p (hamującej powstawanie białek TIMP-3 oraz RECK, blokujących MMP-9) w surowicy pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym, stabilną chorobą wieńcową oraz zdrowych wolontariuszy.

3. Postawienie i przedyskutowanie hipotezy o wpływie czynników modyfikujących ekspresję genów w ścianach tętnic na wczesnym etapie życia na rozwój blaszek miażdżycowych w późniejszych latach życia.

Metodyka

Usystematyzowałem wiedzę na temat regulacji białek macierzy zewnątrzkomórkowej i opublikowałem pracę poglądową [Kowara M i wsp. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2017 Jul;44(7):711-718].

Wykonałem badanie kliniczne - zrekrutowałem 43 osoby, w tym 8 wolontariuszy, 10 pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową oraz 25 pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym, w tym 8 z niestabilną dławicą (UA), 9 z zawałem serca bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI) oraz 8 z zawałem serca z uniesieniem odcinka ST (STEMI). W surowicy wszystkich osób oznaczyłem poziom ekspresji cząsteczki hsa-miR-21-5p (za pomocą metody qRT-PCR) i dokonałem porównania pomiędzy poszczególnymi grupami [Kowara M i wsp. *Kardiologia Polska*. 2019 Nov 22;77(11):1074-1077].

Opublikowałem pracę oryginalną, w której przedyskutowałem hipotezę dotyczącą wpływu czynników działających na wczesnych etapach życia na rozwój i destabilizację blaszki miażdżycowej w latach późniejszych [Kowara M i wsp. *Medical Hypotheses*. 2019 Jan; 122:106-110].

Wyniki

W pracy poglądowej skoncentrowałem się na wyodrębnieniu cząsteczek mikro-RNA regulujących ekspresję poszczególnych grup białek strukturalnych oraz białek regulatorowych macierzy zewnątrzkomórkowej (przede wszystkim metaloproteinaz), w sposób szczególny koncentrując się na szlakach stabilizujących oraz destabilizujących blaszkę miażdżycową.

W pracy badawczej wykazałem, że względny poziom ekspresji cząsteczki hsa-miR-21-5p jest wyższy w surowicy pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym niż u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową oraz zdrowych wolontariuszy. Wynik ten nie był jednak istotny statystycznie (2,68 vs 1,90 vs 1,81; $p = 0.15$).

Dopiero na podstawie analizy podgrup stwierdziłem, że poziom ekspresji hsa-miR-21-5p jest istotnie wyższy w surowicy pacjentów z zawałem serca STEMI niż u pacjentów z niestabilną dławicą (UA) (5,96 vs 2,31 $p = 0,04$) oraz stabilną chorobą wieńcową (SCAD) (5,96 vs 2,32; $p = 0,04$). Nie wykazałem natomiast istotnych różnic między poziomem ekspresji tej cząsteczki u pacjentów z UA oraz SCAD (2,31 vs 2,32; $p = 0,99$).

W trzeciej pracy ze zbioru artykułów, opublikowanej w czasopiśmie *Medical Hypotheses* sformułowałem hipotetyczną koncepcję ELPHaD (Early Life Programming of Health and Disease), w której postuluję istotny wpływ czynników działających na wczesnym etapie życia osobniczego człowieka na rozwój i destabilizację blaszki miażdżycowej w późniejszych okresach życia.

Wnioski

W mojej pracy doktorskiej podkreśliłem istotną rolę czynników wpływających na ekspresję genów białek strukturalnych i regulatorowych macierzy zewnątrzkomórkowej w procesie destabilizacji blaszki miażdżycowej, prowadzącym do ostrego zespołu wieńcowego, a nawet do zawału serca. Temat wymaga dalszych badań, ukierunkowanych na wyodrębnienie kluczowych sieci molekularnych szlaków wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych oraz na określenie ważności poszczególnych procesów, przy zastosowaniu metod matematycznych.