

Znak:

Katowice, 10.05.2019 r.

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Dziekanat Wydziału Lekarskiego

Warszawa

Katedra i Klinika
Kardiochirurgii

40-635 Katowice,
ul. Ziołowa 45/47
www.sum.edu.pl

KIEROWNIK
Prof. dr hab. n. med. Marek DEJA
tel.: (+48 32) 359 88 77
fax: (+48 32) 359 89 07

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 359 88 77
tel.: (+48 32) 359 89 07

fax: (+48 32) 359 89 07
kkch@sum.edu.pl

RECENZJA

Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Oleny Wojno „Interakcja układu apelinergicznego i wazopresynergicznego w regulacji czynności układu sercowo-naczyniowego u szczurów na diecie wysokotłuszczowej”

Narastająca epidemia otyłości i związanych z nią chorób układu sercowo-naczyniowego jest jednym z najważniejszych wyzwań zdrowotnych ostatnich dziesięcioleci. Odkrycie, że tkanka tłuszczowa jest ogromnym narządem endokrynnym, a otyłość zmienia istotnie funkcjonowanie układu krążenia, zaowocowało szeregiem badań zmierzających do poznania patofizjologii otyłości i interakcji pomiędzy układem adipokin a układem sercowo-naczyniowym. Wyjaśnienie złożonych mechanizmów rządzących regulacją ciśnienia tętniczego w zależności od stanu odżywienia, diety jak i stopnia rozwoju tkanki tłuszczowej daje nadzieję nie tylko na lepsze zrozumienie związków przyczynowo skutkowych ale i na stworzenie potencjalnych nowych metod leczenia pacjentów z otyłością, i zaburzeniami regulacji układu krążenia, a tym samym zmniejszenie śmiertelności sercowo-naczyniowej. Praca doktorska lek. Oleny Wojno stanowi kolejny przyczynek w tej dziedzinie.

Przedstawiona mi do recenzji praca zatytułowana „Interakcja układu apelinergicznego i wazopresynergicznego w regulacji czynności układu sercowo-naczyniowego u szczurów na diecie wysokotłuszczowej” ma formę maszynopisu zawierającego na 123 stronach oprócz Spisu treści, Spisu rycin, Wykazu skrótów i streszczeń w języku polskim i angielskim, treść rozprawy (87 stron) opatrzoną wykazem 256 cytowanych pozycji literaturowych. Praca finansowana była z grantu Preludium Narodowego Centrum Nauki. Na badania uzyskano zgodę i Lokalnej Komisji Etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach przy Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego.

W trakcie prowadzonych przez siebie badań doktorantka poddała eksperymentów 116 szczurów szczepu Sprague Dawley płci męskiej, z których 56 od czwartego tygodnia życia do końca doświadczenia (9 tygodni) otrzymywało dietę standardową, a 60 dietę wysokotłuszczową. Po ośmiu tygodniach 100 zwierząt poddano implantacji kaniuli do lewej komory bocznej mózgu, by po kolejnym tygodniu założyć im cewnik do pomiaru ciśnienia w aorcie i dzień później przeprowadzić eksperyment polegający na ocenie zachowania ciśnienia tętniczego w zależności od podawanych dokomorowo substancji. Zwierzęta poddawano następnie eutanazji i oceniano położenie kaniuli w komorze mózgu oraz masę tkanki tłuszczowej zaotrzewnowej i najądrzowej. Kolejne 16 zwierząt poddawano eutanazji po 9

tygodniach diety bez uprzednich zabiegów chirurgicznych aby ocenić stężenie apeliny i kopeptyny w osoczu oraz ekspresję mRNA i białek receptorów apeliny i wazopresyny 1a i 1b w podwzgórzu i rdzeniu przedłużonym.

Doktorantka obserwowała wzrost masy tkanki tłuszczowej zaotrzewnowej i najądrzowej u zwierząt karmionych dietą wysokotłuszczową (przy braku różnic w masie całego ciała) z towarzyszącym wzrostem średniego ciśnienia krwi i częstości akcji serca. Dokomorowe podawanie wazopresyny skutkowało wzrostem ciśnienia tętniczego u wszystkich zwierząt, a dokomorowe podawanie apeliny wzrost ciśnienia jedynie u zwierząt na diecie standardowej. Infuzja dokomorowa antagonisty receptora wazopresyny V1a obniżała ciśnienie jedynie u zwierząt na diecie wysokotłuszczowej, a infuzja antagonisty receptora apeliny ciśnienie u wszystkich zwierząt. W końcu zablokowanie receptora wazopresyny hamowało odpowiedź presyjną na apelinę, a blokowanie receptora apeliny hamowało reakcję presyjną na wazopresynę. W badaniach biochemicznych doktorantka nie wykazała różnic w stężeniu apeliny 36 w osoczu pomiędzy badanymi grupami, ale stwierdziła istotny wzrost poziomu kopeptyny w osoczu zwierząt karmionych dietą wysokotłuszczową. O ile ekspresja wszystkich badanych receptorów (APJR, V1aR i V1bR) na poziomie białka była wyższa u zwierząt na diecie bogatotłuszczowej zarówno w podwzgórzu jak i w rdzeniu przedłużonym, ekspresja mRNA tych receptorów albo się nie różniła, albo obserwowano wręcz obniżenie ekspresji mRNA receptora V1aR w podwzgórzu i V1bR w rdzeniu przedłużonym.

Całość pracy robi wrażenie dobrze zaprojektowanego i starannie przeprowadzonego doświadczenia. Doktorantka dyskutuje swoje wyniki w świetle istniejącego piśmiennictwa. Doktorantka stawia dobrze udokumentowany wniosek dotyczący interakcji ośrodkowej układu apelinergetycznego i wazopresynergetycznego w regulacji układu sercowo-naczyniowego. Trzeba przyznać, że fakt wzajemnego blokowania efektów presyjnych obu agonistów przez blokery receptorów drugiego z nich jest szczególnie interesującym znaleziskiem dobrze przedyskutowanym przez doktorantkę. Drugi wniosek dotyczący tego, że dieta wysokotłuszczowa wpływa na ośrodkową interakcję obu badanych układów poprzez zmianę ekspresji i poziomu białek receptorowych wydaje mi się wysoce spekulatywny. Obserwujemy bowiem odmienną interakcję agonistów i antagonistów u zwierząt na różnej diecie przy jednoczesnym wzroście ekspresji wszystkich badanych receptorów.

Z kolei w trzecim wniosku, o ile prawdziwe wydaje się stwierdzenie, że dieta wysokotłuszczowa znosi ośrodkowe presyjne działanie apeliny, o tyle twierdzenie, że nie wpływa ona na układ wazopresynergetyczny wydaje się nieprawdziwe. Przecież blokada receptora V1a obniżała ciśnienie tylko u zwierząt na diecie wysokotłuszczowej, co sama doktorantka słusznie tłumaczy większym udziałem układu wazopresynergetycznego w podwyższaniu spoczynkowego ciśnienia krwi u tych zwierząt.

Z obowiązku recenzenta pragnę jeszcze zgłosić kilka uwag i pytań.

Nie jest do końca jasne ile tak naprawdę zwierząt uczestniczyło w eksperymentach w poszczególnych grupach i na podstawie ilu pomiarów powstały wyniki. Czy wszystkie zwierzęta przeżyły zabieg chirurgiczny? Ponadto doktorantka sama pisze, że zwierzęta, u których po eutanazji stwierdzano nieprawidłowe położenie kaniuli wewnątrzkomorowej wykluczano z analizy. Doktorantka powinna podać liczbę zwierząt na każdym etapie prowadzonego

eksperymentu, a rysunki opatrzyć liczbą n. To zwiększa wiarygodność prezentowanych wyników.

Nie jest również jasne na jakiej zasadzie zwierzęta trafiły do poszczególnych grup i podgrup. Czy prowadzono randomizację, a jeśli tak to w jaki sposób. Również grupa zwierząt poddanych badaniom biochemicznym była dobierana co do płci i wieku a powinna być chyba zrandomizowana.

Doktorantka opisuje szczegółowo zabieg umieszczania kaniuli w lewej komorze bocznej. Jak rozumiem metoda ta była wcześniej używana w Zakładzie Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej WUM. Doktorantka powinna podać odpowiedni odnośnik literaturowy, a w przeciwnym wypadku opisać doświadczenia walidujące skuteczność prowadzonego zabiegu (nawet jeśli weryfikowano położenie kaniuli po eutanazji u wszystkich zwierząt).

W metodyce znajduje się rozdział dotyczący oceny morfologicznej adipocytów tkanki tłuszczowej zaotrzewnowej i najądrzowej, ale w wynikach nie znalazłem ani słowa na ten temat.

Czy fakt, że zwierzęta na diecie wysokotłuszczowej nie różniły się masą ciała od zwierząt na diecie standardowej był zamierzony, jest przypadkowy, jest zgodny z przewidywaniami i literaturą? Doktorantka powinna przedyskutować ten fakt.

Biorąc pod uwagę różnice w masie tkanki tłuszczowej zaotrzewnowej i najądrzowej, czy doktorantka próbowała poszukiwać korelacji pomiędzy masą tej tkanki a ciśnieniem spoczynkowym badanych zwierząt. Podobnie czy poszukiwano korelacji pomiędzy poziomem apelinu i kopeptyny a ciśnieniem?

Na zakończenie, recenzent odnosi wrażenie, że rozdział wyniki byłby czytelniejszy gdyby doktorantka zamiast pisać o „różnicach zmian średniego ciśnienia tętniczego”, czy o tym, że „ Δ MABP w grupie ... były istotnie większe w porównaniu z Δ MABP u szczurów w grupie...”, pisała po prostu o wzrostach i spadkach ciśnień. Rozumiejąc pewien statystyczny puryzm wynikający z opisywania wyników analizy wariancji i następnie analizy post-hoc, wyrażam przekonanie, że należy oddzielić narzędzie statystyczne od opisu wyników.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa opisuje dobrze zaprojektowany i rzetelnie przeprowadzony oraz przedyskutowany eksperyment badawczy, który stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Praca świadczy również o niewątpliwej znajomości tematu i dużej wiedzy lek Oleny Wojno oraz potwierdza jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Tym samym przedstawiona mi rozprawa wyczerpuje warunki art. 13. ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i pozwala mi wnioskować do Wysockiej Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o nadanie lek Olenie Wojno stopnia naukowego doktora.

Z wyrazami szacunku,

KIEROWNIK
Katedry i Kliniki Kardiologii i Kardiologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Marek A. Deja