

Recenzja

rozprawy doktorskiej

lek. Aleksandry Sobiborowicz-Sadowskiej pt.

„Ocena roli neprylizyny i farmakologicznego zahamowania jej aktywności w zwierzęcym modelu kardiotoksyczności antracyklin”.

Przedstawiona mi do oceny praca posiada typowy dla rozprawy doktorskiej układ. Jest bardzo obszerna - liczy 146 stron, zawiera 320 pozycji piśmiennictwa, 42 ryciny i 17 tabel, co stanowi liczbę adekwatną do zakresu poruszanych w pracy zagadnień. Praca przygotowana jest przejrzysto i nowocześnie - staranna redakcja rozprawy świadczy o szacunku dla Czytelnika, a użyta w niej poprawna polszczyzna ułatwia lekturę, zrozumienie i analizę interesujących danych uzyskanych przez Autorkę.

Tematem rozprawy jest ocena zmian aktywności, ekspresji i poziomu neprylizyny w obrębie lewej komory oraz aktywności i stężenia wolnej postaci neprylizyny w surowicy zwierząt doświadczalnych w modelu ostrej i przewlekłej kardiotoksyczności wywołanej antracyklinami, a także ocena zależności pomiędzy tymi parametrami a nasileniem kardiotoksyczności. Ponadto Doktorantka oceniała wpływ farmakoterapii z zastosowaniem antagonisty receptora angiotensyny II typu 1 i inhibitora neprylizyny w niskiej dawce na stopień nasilenia przewlekłej kardiotoksyczności wywołanej antracyklinami.

Od końca zeszłego wieku zauważalny jest ogromny postęp w leczeniu onkologicznym, dzięki czemu poprawia się rokowanie pacjentów z nowotworami złośliwymi. W związku z tym coraz większe znaczenie zaczynają odgrywać działania niepożądane leczenia przeciwnowotworowego, w tym jego kardiotoksyczność. Ilustracją znaczenia tego problemu klinicznego może być fakt, że w zeszłym roku Europejskiej Towarzystwo Kardiologiczne po raz pierwszy opublikowało wytyczne dotyczące kardioonkologii. Nie dziwi zatem intensywne dążenie do lepszego poznania mechanizmów kardiotoksyczności indukowanej lekami przeciwnowotworowymi oraz próby znalezienia skutecznych metod prewencji. Stąd, temat pracy Aleksandry Sobiborowicz-Sadowskiej należy uznać za poznawczo istotny i wpisujący się w aktualny nurt badań.

Należy też podkreślić, że badania Doktorantki były realizowane w ramach projektu współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój na lata 2014-2020.

Tytuł pracy właściwie odzwierciedla treść rozprawy.

Wykaz skrótów w porządku alfabetycznym zamieszczony na początku pracy ułatwia lekturę, wprowadzając Czytelnika w terminologię używaną przez Doktorantkę.

Spis rycin i tabel zwiększa przejrzystość rozprawy i świadczy o szacunku dla Czytelnika.

Wstęp jest bardzo dobrze opracowany pod względem merytorycznym – stanowi cenny element rozprawy, a zarazem przydatne wprowadzenie do poruszanych w pracy zagadnień. Pierwsza część wstępu to omówienia definicji, epidemiologii, czynników ryzyka, mechanizmów, biomarkerów, i modeli zwierzęcych kardiotoxyczności antracyklin oraz metod jej zapobiegania. Druga część to charakterystyka neprylizyny, ze szczególnym uwzględnieniem jej wpływu na peptydy natriuretyczne i układ renina-angiotensyna-aldosteron, ekspresji w chorobach układu krążenia oraz możliwości i znaczenia farmakologicznego hamowania jej aktywności. Dwie ryciny zawarte we wprowadzeniu doskonale ilustrujące wewnątrzkomórkowe mechanizmy kardiotoxyczności antracyklin i mechanizm działania antagonisty receptora angiotensyny II typu 1 i inhibitora neprylizyny w znaczący sposób ułatwiają zrozumienie tych złożonych zagadnień.

Wstęp do rozprawy dokumentuje doskonałą znajomość aktualnego piśmiennictwa naukowego i bardzo dobrą orientację Autorki w zagadnieniach związanych z tematyką pracy doktorskiej.

Należy dodać, że angielskojęzyczna praca pogłówna opublikowana przez Doktorantkę w styczniu tego roku w czasopiśmie *Cancers* (Impact Factor 5,2) jest świetnym podsumowaniem aktualnego stanu wiedzy na temat hamowania aktywności neprylizyny w prewencji kardiotoxyczności wywołanej antracyklinami.

Zarówno **cele główne**, jak i **cele szczegółowe** badania są przedstawione jednoznacznie, a ich wybór jest dobrze uzasadniony względami poznawczymi. Sformułowanie założeń pracy we wcześniejszym podrozdziale świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Materiał badania stanowiło 51 dwunastotygodniowych samców szczura szczepu SPRD. Liczebność osobników w grupach doświadczalnych oraz kontrolnych ustalono w oparciu o wcześniejsze modelowanie matematyczne, co wskazuje na doskonale opanowanie warsztatu badawczego przez Autorkę rozprawy.

Metody badań omówione są bardzo dokładnie i przejrzysto. W pierwszej części badania, w modelu ostrej kardiotoxyczności obejmowały one następujące czynności badawcze: badanie echokardiograficzne w znieczuleniu ogólnym, iniekcję soli fizjologicznej (w grupie kontrolnej) lub dokсорubicyny (w grupie doświadczalnej), ponowne badanie echokardiograficzne w znieczuleniu ogólnym po upływie doby od iniekcji, a następnie uśmiercenie szczurów celem pobrania tkanek do oceny histopatologicznej oraz analizy biochemicznej i metodami biologii molekularnej. Natomiast w modelu przewlekłej kardiotoxyczności iniekcje były powtarzane w odstępach tygodniowych do całkowitej liczby czterech podań, po których wykonywano kontrolne badanie echokardiograficzne oraz ocenę histopatologiczną pobranych tkanek, wraz z analizą biochemiczną i metodami biologii molekularnej.

W drugiej części badania obok czynności badawczych przeprowadzanych w modelu przewlekłej kardiotoxyczności zwierzęta od pierwszej doby doświadczenia otrzymywały raz dziennie przez zgłębnik dożołądkowy sól fizjologiczną (w przypadku grupy kontrolnej) lub sakubitryl/walsartan (w przypadku grupy doświadczalnej).

Omówienie wszystkich procedur badawczych jest bardzo szczegółowe, pozwalające na ich pełne odtworzenie. W opisie metodyki badania echokardiograficznego, bardzo dokładnym i bogato ilustrowanym rycinami, zwraca uwagę dbałość o rejestrację doskonałej jakości danych i o wiarygodność pomiarów. Charakterystyka analizy statystycznej – prawidłowej i nowoczesnej – dowodzi opanowania właściwych metod analitycznych przez Doktorantkę.

Wyniki badań stanowią o dużej wartości poznawczej rozprawy. Są opisane klarownym językiem; istotne dane zestawiono w przejrzystych tabelach oraz adekwatnych wykresach.

W modelu ostrej kardiotoxyczności Doktorantka stwierdziła, że jednokrotne podanie doksorubicyny wywierało hamujące działanie na aktywność enzymatyczną neprylizyny w obrębie lewej komory w ciągu 24 godzin od iniekcji leku. Natomiast to obniżenie aktywności enzymatycznej nie wydawało się wpływać na stopień nasilenia zmian w badaniu echokardiograficznym i histopatologicznym spowodowanych toksycznym uszkodzeniem mięśnia sercowego. Autorka zaobserwowała natomiast silną dodatnią korelację między stężeniem wolnej postaci neprylizyny w surowicy a nasileniem zmian degeneracyjnych kardiomiocytów w badaniu histopatologicznym.

W modelu przewlekłej kardiotoxyczności zwracał uwagę hamujący wpływ doksorubicyny na poziom białka neprylizyny w obrębie lewej komory. Jednak to obniżenie poziomu białka neprylizyny w obrębie lewej komory nie wydawało się wpływać na stopień nasilenia zmian w badaniu echokardiograficznym i histopatologicznym spowodowanych toksycznym uszkodzeniem mięśnia sercowego. Doktorantka odnotowała jednak silną ujemną korelację między stężeniem wolnej postaci neprylizyny w surowicy a indeksowanymi wartościami objętości wyrzutowej i pojemności minutowej serca.

W drugiej części badania, w modelu przewlekłej kardiotoxyczności dało się zaobserwować ograniczenie zmian w badaniu echokardiograficznym, histopatologicznym oraz niższe stężenie sercowej troponiny I w grupie zwierząt otrzymujących sakubitryl/walsartan w dawce 20 mg/kg w porównaniu do grupy kontrolnej.

Na podkreślenie zasługuje fakt umiejętnej prezentacji znacznej ilości informacji, w sposób spójny i logiczny, a przy tym łatwy w odbiorze.

Dyskusja stanowi klarowne omówienie wyników obecnej pracy na tle światowego piśmiennictwa. Autorka dowodzi doskonale znajomości dostępnej w tym zakresie literatury i umiejętności jej krytycznej analizy w zestawieniu z wynikami własnymi. Dyskusja stanowi bardzo wartościową część tej rozprawy.

Wnioski i podsumowanie stanowią poprawne zamknięcie całości wyводу. Zawierają one najistotniejsze implikacje wykonanych badań.

Rozdział dotyczący ograniczeń pracy dowodzi dojrzałości naukowej Doktorantki.

Piśmiennictwo jest bardzo obszerne i właściwie wybrane, a jego dobór potwierdza bardzo dobrą znajomość dostępnej literatury tematu rozprawy.

Streszczenia w języku polskim i angielskim, umieszczone na początku rozprawy, prawidłowo podsumowują najważniejsze aspekty rozprawy.

Z obowiązku recenzenta mam następujące **komentarze, uwagi i zapytania**:

1. We wstępie Doktorantka przytacza aktualne kryteria kardiotoksyczności związanej z leczeniem przeciwnowotworowym, które oparte są m.in. o echokardiograficzny pomiar globalnego odkształcenia lewej komory (GLS). Ten parametr dostarcza istotnych dodatkowych informacji w porównaniu do frakcji wyrzutowej czy objętości wyrzutowej lewej komory, pozwalając na detekcję wcześniejszych etapów uszkodzenia mięśnia sercowego. Co ważne pomiary GLS mogą być dokonywane na modelach zwierzęcych, na co wskazuje się w piśmiennictwie. Czym podyktowana była decyzja by nie uwzględnić takiej analizy w przeprowadzonym badaniu? Być może zauważalne byłyby wówczas np. silniejsze związki między poziomem i aktywnością neprylizyny a nasileniem zmian w badaniu echokardiograficznym.

2. Rekomendowany protokół badania echokardiograficznego u pacjentów poddawanych leczeniu przeciwnowotworowemu obejmuje ocenę funkcji prawej komory ze względu na doniesienia o możliwym negatywnym wpływie takich terapii również na funkcję prawej komory. Taka analiza możliwa jest też w modelach zwierzęcych np. poprzez pomiar TAPSE czy odkształcenia podłużnego i wydaje się, że wzbogaciłaby znacznie przeprowadzone badania.

3. Doktorantka szeroko stosuje skróty w tytułach rozdziałów rozprawy. Nie wydaje się to do końca uzasadnione biorąc pod uwagę niewielką długość tych tytułów (np. „1.3.2. Wpływ NEP na RAAS”), szczególnie, że wyjaśnienie tych skrótów znajduje się dopiero na kolejnych stronach rozprawy po spisie treści, w którym są używane. Ponadto pojedyncze skróty używane przez Doktorantkę (np. AIC), nie zostały wyjaśnione

w spisie skrótów. Są one jednak rozwinięte w tekście rozprawy przy ich pierwszym użyciu, więc nie utrudnia to znacząco lektury pracy.

Powyższe uwagi nie umniejszają mojej wysokiej oceny wartości merytorycznej pracy doktorskiej lek. Aleksandry Sobiborowicz-Sadowskiej i mają na celu jedynie pomoc w uzyskaniu jak najwyższej jakości przyszłych publikacji.

Podsumowując, praca stanowi oryginalne dokonanie Doktorantki i świadczy o doskonałym opanowaniu warsztatu pracy naukowej, oczekiwanym od kandydatki na stopień doktora nauk medycznych.

W mojej ocenie rozprawa doktorska lek. Aleksandry Sobiborowicz-Sadowskiej 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 tym proszę Wysoką Radę Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie jej Autorki do dalszych części przewodu doktorskiego, wnosząc zarazem o wyróżnienie pracy. Zasluguje ona na nie ze względu na ważką w skali międzynarodowej tematykę, mieszczącą się w aktualnym nurcie badań oraz precyzyjne opracowanie tematu prowadzące do znaczących poznawczo wniosków.

Łódź, 2023/07/20