

RECENZJA

rozprawy na stopień doktora nauk medycznych
mgr Przemysław Sobczak

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Tytuł pracy: ***Wpływ lewosimendanu na układ krzepnięcia i zmiany stężenia biomarkerów sercowo-naczyniowych u pacjentów z niewydolnością serca***

Promotor: ***dr hab. n. med. Magdalena Krintus, prof. UMK***

Niewydolność serca (HF, *heart failure*) jest złożonym, zagrażającym życiu zespołem klinicznym o charakterystycznych objawach podmiotowych, w postaci duszności, obrzęków kończyn dolnych czy obniżenia tolerancji wysiłku, którym mogą towarzyszyć objawy przedmiotowe. Do tych ostatnich należą poszerzenia żył szyjnych, trzeszczenia nad płucami czy obrzęki obwodowe, które wynikają z zaburzeń w budowie i/lub czynności serca, prowadzących do zmniejszonego rzutu serca i/lub zwiększonego ciśnienia wewnątrz jam serca w spoczynku lub w trakcie wysiłku.

Chorzy z objawami klinicznymi HF to grupa około 26 milionów ludzi na całym świecie, u których bezwzględnie konieczne jest stosowanie odpowiedniego postępowania diagnostyczno-terapeutycznego, nie tylko w celu opóźnienia lub zahamowania progresji choroby, lecz także poprawy komfortu i wydłużenia życia pacjenta. Z uwagi na fakt, że dominującą przyczyną hospitalizacji chorych z powodu HF jest dekompensacja przewlekłej niewydolności serca, badania oceniające związek lewosimendanu – leku wykorzystywanego do krótkotrwałego leczenia ww. patologii – z parametrami układu krzepnięcia i fibrynolizy oraz biomarkerami sercowo-naczyniowymi u tych chorych, podjęte w pracy noszącej tytuł: „Wpływ lewosimendanu na układ krzepnięcia i zmiany stężenia biomarkerów sercowo-naczyniowych u pacjentów z niewydolnością serca”, przez Pana mgr Przemysława Sobczaka, pod opieką Pani dr hab. n. med. Magdaleny Krintus, prof. UMK, uważam za niezwykle interesujące, zarówno ze względów naukowych, jak i potencjalnie klinicznych.

Oceniana rozprawa doktorska obejmuje 139 stron tekstu wraz z wykazem rycin (35) i tabel (16) oraz dokumentem potwierdzającym pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu Collegium Medicum w Bydgoszczy w zakresie badań stanowiących cel dysertacji. Praca posiada typowy, dla opracowań naukowych z dziedziny nauk medycznych, układ rozdziałów, z zachwianiem właściwych pomiędzy nimi proporcji, z znaczną dominacją rozdziału wstęp. Wprowadzeniem do rozprawy jest alfabetyczny wykaz skrótów, natomiast kończy ją spis – w większości przytoczonego piśmiennictwa (nie znalazłam cytowań pozycji: 48 i 52, zaś sam spis piśmiennictwa nie jest jednolity).

Katedra i Zakład Chemii
Klinicznej i Diagnostyki
Laboratoryjnej

Wydział Nauk
Farmaceutycznych
w Sosnowcu

41-200 Sosnowiec
ul. Jedności 8
www.sum.edu.pl

Profesor SUM naukowo-badawczy
dr hab. n. med. Katarzyna Winsz-Szczotka
winsz@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 364 11 50
fax: (+48 32) 364 11 57
chem_klin@sum.edu.pl

Rozdział *Wstęp* poświęcony jest w swej pierwszej części charakterystyce lewosimendanu, będącego pochodną hydrazonu i pirydazyny, o działaniu inotropowo-dodatnim, wazodylatacyjnym oraz kardioprotekcyjnym. Lek cechuje się – po podaniu dożylnym – parametrami farmakokinetycznymi porównywalnymi u zdrowych ochotników i pacjentów z HF, a OR-1855 (aminofenylopirydazynon) oraz OR-1896 (*N*-acetylowany koniugat OR-1855) są głównymi jego aktywnymi metabolitami. Doktorant wskazuje ponadto prawdopodobny – wynikający ze strukturalnego podobieństwa do inhibitorów fosfodiesterazy – wpływ lewosimendanu na aktywność i funkcje płytek krwi. Skuteczność i bezpieczeństwo stosowania omawianego leku oceniono – w opisanych w niniejszej pracy – kilku badaniach klinicznych, w tym – REVIVE (*Randomized Multicenter Evaluation of Intravenous Levosimendan Efficacy*), SURVIVE (*Survival of Patients With Acute Heart Failure in Need of Intravenous Inotropic Support*), czy w badaniu LIDO (*Levosimendan Infusion versus Dobutamine*) opublikowanym na łamach czasopisma *Lancet* w 2002 r.

Kolejno, na stronicach dysertacji odnajdujemy szczegółowo opisaną definicję, epidemiologię, diagnostykę oraz leczenie przewlekłej i ostrej niewydolności serca. Wydaje się, że treść tego rozdziału powinna wprowadzać czytelnika w tematykę pracy i poprzedzać opis lewosimendanu. Wśród parametrów wykorzystywanych w procesie diagnostycznym HF Pan Magister wymienia peptydy natriuretyczne, w tym – peptyd natriuretyczny typu B (BNP) oraz N-końcowy fragment propeptydu natriuretycznego typu B (NT-proBNP), których wartości stężeń odpowiednio: NT-proBNP ≥ 125 pg/ml lub BNP ≥ 35 pg/ml, przy obecności u chorego czynników ryzyka, objawów niewydolności serca i nieprawidłowego zapisu EKG, potwierdzają rozpoznanie HF. Leczenie opisywanego stanu chorobowego lewosimendanem sprzyja normalizacji osoczowych stężeń tych markerów. Co więcej, Doktorant charakteryzuje tropiny oraz nieswoistą dla układu sercowo-naczyniowego galektynę 3. Trzecią część wstępu stanowi charakterystyka układu krzepnięcia i fibrynolizy, ze szczególnym uwzględnieniem fizjologii płytek krwi. W omawianym rozdziale Doktorant opisuje także budowę trombocytów uwzględniając ich liczne receptory, poprzez które następuje regulacja kaskady krzepnięcia krwi, reakcji immunologicznych czy procesów nowotworzenia. Ta część pracy byłaby niezwykle interesująca dla czytelnika, gdyby nie występujące w niej liczne błędy stylistyczne, interpunkcyjne, a nawet ortograficzne, np. str. 62, wers 18 (agonistom). Niepokój budzą także błędy merytoryczne, np. na str. 60 (wers 26) spodziewamy się charakterystyki receptora prostacykliny, podczas gdy tekst ten odnosi się do podręcznikowego opisu prostacykliny. Z kolei, liczne niedociągnięcia w fragmencie opisującym „receptor serotoninowy”, str. 62, uniemożliwiają jego zrozumienie. Zdziwienie budzą ponadto bardzo długie, kilkustronicowe fragmenty tekstu z jednym odnośnikiem literaturowym, np. str. 57-59 [76] czy str. 60-63 [78], niezawierające treści opisywanych w pracy. Jednakże, zamieszczenie w tekście rozdziału 12 rycin oraz 12 tabel ułatwia lekturę tej części dysertacji, która wprowadza w jej cel, którym jest ocena wpływu lewosimendanu i jego metabolitów na stężenie/wielkość parametrów układu krzepnięcia oraz biomarkerów sercowo-naczyniowych u pacjentów z niewydolnością serca.

Materiałem do badań były próbki krwi pozyskane od 25 pacjentów z rozpoznaną dekompenzacją przewlekłej niewydolności serca, hospitalizowanych w Klinice Kardiologii i Chorób Wewnętrznych Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy, i zakwalifikowanych do terapii lewosimendanem.

Próbki krwi pobierano, od bardzo zróżnicowanych wiekowo pacjentów, tj. od 40 do 80 lat, zarówno przed, jak i w trakcie dożylnego podania leku, tj. po upływie 1 godziny od rozpoczęcia wlewu, a następnie po upływie 6, 12, 24 godzin trwania wlewu, oraz po zakończeniu tej procedury, tj. po upływie 48 i 72 godzin od rozpoczęcia terapii. Uprzejmie zapytuję Doktoranta czy u pacjentów stosowano inne – niż lewosimendan – leki regulujące pracę serca? Czy zastosowany dobór osób do badań gwarantował osiągnięcie celu pracy?

Do oceny parametrów stanowiących cel dysertacji Pan Magister wykorzystał liczne metody, w tym – agregometrię impedancyjną [ocenie podległy szlaki agregacji płytek krwi zależne od cyklooksygenazy (ASPItest), kolagenu (COLtest), adenzynodifosforanu (ADPtest), trombiny (TRAPtest) oraz czynnika von Willebranda (RISTOtest)], trombelastografię (oceniono szybkość krzepnięcia, siłę skrzepu i jego stabilność), zautomatyzowany system całościowej analizy formowania skrzepu w warunkach przepływu krwi, wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną z spektrometrem mas (oceniono stężenie lewosimendanu, OR-1855 oraz OR-1896), metodę immunochemiczną z użyciem mikrocząsteczek i znacznika chemiluminescencyjnego (oznaczono stężenie galektyny-3, troponiny I, peptydu natriuretycznego typu B), immunoturbidymetryczną (oznaczono stężenie białka C-reaktywnego), spektrofotometryczną (oznaczono stężenie kreatyniny), potencjometrię z użyciem elektrod jonoselektywnych (oznaczono stężenie sodu, potasu, chlorków), i inne właściwe dla analizatora hematologicznego firmy Sysmex. Wszystkie metody stosowane przez Doktoranta zostały szczegółowo opisane, z wyjątkiem chromatograficznego oznaczenia lewosimendanu i jego metabolitów, co stanowiło nadrzędny cel pracy. Zdecydowana większość pomiarów została przeprowadzona z użyciem analizatorów biochemicznych Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej Szpitala Uniwersyteckiego w Bydgoszczy i Pracowni Biotechnologii Eksperymentalnej Collegium Medicum w Bydgoszczy. Uprzejmie zapytuję, które badania wykonywał Pan Magister samodzielnie, bowiem w ograniczeniach pracy czytamy, że: „na prawdopodobieństwo popełnienia błędu analitycznego może wskazywać wykonywanie oznaczeń przez różnych operatorów” – str. 115 wers 22.

Wyniki badań stanowiących cel niniejszej pracy, poddane analizie statystycznej, Doktorant poprzedził ogólną charakterystyką parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi osób badanych (tabela 13), choć zabrakło wskaźników opisujących funkcję wątroby, której dysfunkcja jest silnym i niekorzystnym czynnikiem predykcyjnym zarówno w przewlekłej jak i ostrej HF. Zasadnym byłoby włączenie do powyższego opisu pacjentów także wyników pozyskanych od osób zdrowych w porównywalnym wieku i płci, i potwierdzenie czy ewentualne różnice w wartościach analizowanych parametrów pomiędzy tymi grupami noszą cechy znamienności statystycznej. Co więcej, 80% osób chorych przyjmowało kwas acetylosalicylowy i inne leki regulujące proces krzepnięcia, zaś w kryteriach wyłączenia z badań znajdujemy: aktualne leczenie doustnym antykoagulantem.

Doktorant wykazał, iż: • wartości „ADPtest” (aktywacja płytek krwi przez ADP) cechujące pacjentów po 24 godzinnym wlewie lewosimendanem były istotnie niższe zarówno w stosunku do wartości stwierdzonych u tych osób przed leczeniem jak i po upływie 72 godzin od jego zainicjowania; • wartości „ASPItest” (agregacja zależna od cyklooksygenazy wykorzystująca kwas arachidonowy) w grupie pacjentów przed terapią były istotnie wyższe w stosunku do wartości w grupie pacjentów po 6, 12, 48 i 72 godzinach od pierwszego wlewu

leku; • wartości „COLtest” (globalna diagnostyka płytek krwi z wykorzystaniem kolagenu) w grupie pacjentów przed terapią były istotnie wyższe w stosunku do wartości w grupie pacjentów po 12 i 24 godzinach wlewu, natomiast wartość ocenianego parametru w tej ostatniej grupie chorych (24) była istotnie niższa w stosunku do tej stwierdzonej u chorych po 72 godzinach od rozpoczęcia terapii; • wartości „RISTOtest” (agregacja zależna od czynnika von Willebranda), w grupie pacjentów przed terapią były istotnie niższe w stosunku do wartości w grupie pacjentów po 48 godzinach od zainicjowania wlewu; • wartości „TRAPtest” (agregacja płytek krwi poprzez receptor trombiny z wykorzystaniem białka aktywującego receptor trombiny) we wszystkich analizowanych grupach osób badanych były porównywalne; • agregacja płytek w odpowiedzi na kwas arachidonowy (w TEG® Platelet Mapping™) u chorych przed terapią była istotnie różna w stosunku do pacjentów z grup czasowych 12 i 72, podobnych różnic nie wykazano w przypadku stosowania ADP; • parametry uzyskane w T-TAS® (*Total Thrombus formation Analysis System*) we wszystkich analizowanych grupach osób badanych były porównywalne; • wartości parametrów oceniających dynamiczny proces tworzenia i rozpadu skrzepu, a uzyskane w CK-TEG (citrated kaolin TEG) kształtowały się w trakcie leczenia następująco: czas do zainicjowania formowania skrzepu (R) wydłużał się wraz z czasem terapii, natomiast nie zmieniały się istotnie w trakcie leczenia: szybkość tworzenia skrzepu (K), dynamika tworzenia skrzepu (kąąt α), siła skrzepu (MA) i fibrynoliza [Iiza 30 minut po osiągnięciu MA (LY30)]; • lewosimendan osiągnął maksymalne stężenie we krwi leczonych osób chorych w 24 godzinie od zainicjowania wlewu, OR-1855 w 48 godzinie, zaś OR-1896 był wykrywany dopiero w 72 godzinie; • terapia sprzyja istotnemu obniżaniu się stężenia BNP, CRP i kreatyniny we krwi leczonych osób chorych, zaś nie wpływa na stężenie troponiny I oraz galektyny-3; • wartości stężeń BNP nie korelowały ze stężeniami lewosimendanu i jego pochodnych; • wartości stężeń BNP oraz galektyny-3 we krwi chorych zarówno przed leczeniem jak i po upływie 72 godzin od zainicjowania wlewu lewosimendanu ujemnie korelowały z wynikami oceniającymi szlaki agregacji płytek krwi.

W powyżej części dysertacji, opisanej w sposób dość zawyły i niejednorodny, zwraca uwagę czytelnika brak analizy zależności pomiędzy stężeniami lewosimendanu, OR-1855, OR-1896 a stężeniami – innymi niż BNP – biomarkerów sercowo-naczyniowych (troponiny I i galektyny 3), co stanowiło cel pracy.

Uzyskane wyniki Doktorant porównał z danymi opisanymi przez innych autorów. Lektura tego rozdziału (tj. *Dyskusja*), stanowiącego raczej rodzaj sprawozdania, byłaby bardziej interesująca gdyby Autor podjął próbę interpretacji i opisu znaczenia – obserwowanej u chorych FH w trakcie stosowania lewosimendanu – dynamiki zmian stężeń ocenianych, licznych parametrów układu krzepnięcia i biomarkerów sercowo-naczyniowych. Wartością dodaną byłoby wskazanie np. prawdopodobnego mechanizmu poprzez który „zmiana stężenia albumin we krwi modyfikuje hamowanie przez lewosimendan indukowanej trombiną agregacji płytek” (str. 111 wers 7), czy w jakim prawdopodobnym mechanizmie lewosimendan realizuje swoje przeciwzapalne działania (str. 114 wers 27).

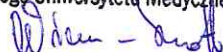
Pracę zamyka wniosek główny i trzy wnioski podrzędne, w zdecydowanej części wynikowe. We wnioskach tych nie dostrzegam jednoznacznego podsumowania dotyczącego określenia czy stan kliniczny pacjenta wpływa na mechanizm działania lewosimendanu związany z układem krzepnięcia, a taki zamiar został wcześniej sformułowany.

W trakcie lektury recenzowanej dysertacji można było dostrzec liczne błędy, nieścisłości, bądź kwestie budzące wątpliwości, których jedynie przykłady wskazałam w powyższym tekście.

Podsumowując, tematyka niniejszej pracy jest interesująca i ważna, bowiem jak wynika ze stanowiska Ekspertów Asocjacji Intensywnej Terapii Kardiologicznej Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego zastosowanie lewosimendanu u pacjentów z ostrą niewydolnością serca wciąż budzi kontrowersje. Dotychczas lekarze nie dysponują jednoznacznymi dowodami pozwalającymi na silną rekomendację stosowania tego leku w wymienionych zaburzeniach, dlatego badania podjęte przez Pana mgr. Przemysława Sobczaka w niniejszej pracy są istotne i mogłyby być pomocne w przedmiotowym zakresie. Jednakże, jak wskazuje Doktorant, praktyczne wykorzystanie uzyskanych wyników wymaga jeszcze ich potwierdzenia w badaniach przeprowadzonych na większej grupie pacjentów, co świadczy o jego umiejętności krytycznej analizy uzyskanych wyników.

Oświadczam, że przedłożona mi do recenzji praca doktorska pt.: „Wpływ lewosimendanu na układ krzepnięcia i zmiany stężenia biomarkerów sercowo-naczyniowych u pacjentów z niewydolnością serca” jest oryginalnym, samodzielnym dorobkiem naukowym Pana mgr. Przemysława Sobczaka, Kandydata do stopnia naukowego doktora nauk medycznych. Jednocześnie potwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Przedkładam, Szanownym Członkom Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy, wniosek o dopuszczenie Pana mgr. Przemysława Sobczaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

PROFESOR SUM BADAWCZO-DYDAKTYCZNY
Katedry i Zakładu Chemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach


dr hab. n. med. Katarzyna Winiarska-Szczotka, prof. SUM