



WARSZAWSKI
UNIwersytet
MEDYCZNY

KATEDRA I ZAKŁAD FIZJOLOGII DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ

Warszawa, 13 sierpnia 2024 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne,

lekarz Anny Marii Langner-Hetmańczuk,
**pt.: „Wpływ nitrogliceryny na chemowrażliwość obwodową u pacjentów z niewydolnością
serca z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory”**

uszykowanej pod opieką promotorską
Pana **prof. dr hab. n. med. Piotra Ponikowskiego,**

w Klinice Kardiologii Instytutu Chorób Serca Uniwersytetu Medycznego im. Piastów
Śląskich we Wrocławiu

Niewydolności serca jest jednym z wiodących problemów klinicznych współczesnej kardiologii, a jej epidemia wiąże się ze znacznym obciążeniem opieki zdrowotnej. Pomimo rozwoju leczenia z wykorzystaniem urządzeń wszczepialnych i istotnych postępów farmakoterapii w ostatniej dekadzie, rokowanie w niewydolności serca jest poważne, z 5-letnią śmiertelnością sięgającą 50%. Lepsze poznanie patomechanizmów związanych z powstawaniem i rozwojem niewydolności serca ma kluczowe znaczenie dla powstania nowych skutecznych form leczenia.

Charakterystyczna dla niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzucania jest aktywacja neurohormonalna prowadząca do pobudzenia układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz do zmian działania odruchów sercowo-naczyniowych z nadmierną aktywnością układu współczulnego i osłabieniem napięcia dosercowych gałęzi nerwu błędnego.

Patomechanizmy związane z rozwojem niewydolności serca nadal stanowią ważny obszar badań, co potwierdza stały rozwój farmakoterapii niewydolności serca. Dobrze poznany związek między nasileniem aktywności współczulnej a niekorzystnym rokowaniem

w niewydolności serca stanowi istotne wyzwanie kliniczne dla poszukiwania nowych form interwencji wykraczających poza blokadę receptorów beta-adrenergicznych w sercu. Związek między nasiloną aktywnością odruchu z chemoreceptorów tętnicznych a aktywnością współczulną jest udokumentowany w modelach zwierzęcych oraz u chorych z niewydolności serca. Próby resekcji jedno- lub obustronnej kłębków szyjnych przeprowadzone w ostatniej dekadzie przekładają się na ograniczenie aktywacji neurohormonalnej i poprawę parametrów krążeniowo-oddechowych, zarówno w modelach zwierzęcych jak i u ludzi. Jednak odbywa się to kosztem działań niepożądanych wynikających z pogorszenia reakcji organizmu na epizody hipoksji. W związku z tym poszukiwane są metod modulowania czynności chemoreceptorów obwodowych z zachowaniem zdolności organizmu do szybkiego wykrywania zmian w dostępności tlenu. W tym kontekście wybór objętego przez lekarz Annę Langner-Hetmańczuk tematu badań wydaje się szczególnie istotny i aktualny zarówno poznawczo jak i klinicznie.

W badaniach będących podstawą recenzowanej pracy Doktorantka podjęła się zbadania wpływu dożylnego wlewu niskiej dawki nitrogliceryny – donoru tlenu azotu – na regulację krążeniowo-oddechową u pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzucania, ze szczególnym uwzględnieniem oceny odruchu z chemoreceptorów tętnicznych. Cel rozprawy ma nie tylko ważne znaczenie dla lepszego poznania patomechanizmów niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową, ale również może mieć potencjalne istotne znaczenie kliniczne. Należy podkreślić, że Doktorantka pracuje pod opieką naukową profesora Piotra Ponikowskiego, pioniera badań nad odruchem z chemoreceptorów w populacji chorych z niewydolnością serca, w ośrodku klinicznym prowadzącym badania stanowiące trzon doniesień naukowych dotyczących kłębków szyjnych i chemowrażliwości u chorych z niewydolnością serca w piśmiennictwie światowym.

Przedstawiona do oceny dysertacja Pani lekarz Anny Langner-Hetmańczuk ma typowy układ prac doktorskich w postaci monografii. Zawiera siedem rozdziałów, na które składają się: Wprowadzenie, Założenia i cele pracy, Metody badań i grupa badana, Wyniki badań, Dyskusja, Podsumowanie, Wnioski, po których znajduje się wykaz użytych skrótów i bibliografia. Na końcu pracy umieszczone zostały streszczenia w języku polskim i w języku angielskim, które precyzyjnie oddają zawartość dysertacji. Poszczególne rozdziały są w logiczny sposób podzielone na odrębne sekcje, co ułatwia zapoznanie się z ich zawartością. Praca ma objętość

86 stron maszynopisu, zawiera 9 rycin, 15 tabel oraz 181 pozycji piśmiennictwa. Rozprawa jest starannie zredagowana, a ryciny i tabele czytelne. Z obowiązku recenzenta, po szczegółowym przeanalizowaniu pracy, muszę wskazać na kilka drobnych błędów natury edytorskiej. W rycinie 1b chemoreceptorowe komórki typu I zostały opisane jako komórki typu II. Rycina na stronie 37 oraz rycina na stronie 41 mają obie przypisany numer 6. We *Wprowadzeniu* Doktorantka używa pisowni „da Castro”, chociaż już w piśmiennictwie użyta jest prawidłowa forma nazwiska „de Castro”. Stosowane anglicyzmy (m.in. „bilateralny”, „kontralateralny”, „sympatyczny”, „parasympatyczny”) można zastąpić polskimi odpowiednikami. Pojedyncze cytowania mają odmienne formatowanie niż całość bibliografii (np. pozycje nr 26, 31, 81, 102, 147). Jednak uchybienia te i nieliczne błędy literowe nie mają istotnego wpływu na wysoki poziom językowy i edytorski dysertacji.

Wprowadzenie jest spójne i tworzy doskonały wstęp do tematyki badawczej pracy. Zostało ono podzielone na dziesięć logicznie ułożony sekcji. Doktorantka omówiła kluczowe mechanizmy chemorecepcji i zaangażowanie poszczególnych mediatorów, ze szczególnym uwzględnieniem procesów zależnych od tlenu azotu. Następnie przedstawiła organizację i działanie odruchu z chemoreceptorów tętnicznych, opisała epidemiologię i patofizjologię niewydolności serca z zaznaczeniem aspektu hemodynamicznego oraz aktywacji neurohormonalnej. Oddzielne podrozdziały dotyczące aktywności współczulnej, nasilonej chemowrażliwości oraz chemoreceptorów obwodowych jako celu terapeutycznego w niewydolności serca stanowią doskonałe zamknięcie wstępu. Pierwszy rozdział dysertacji stanowi dobre wprowadzenie do dalszych części pracy doktorskiej i przygotowuje koncepcyjne fundamenty pod cele projektu postawione przez Doktorantkę w kolejnym rozdziale.

W oparciu o przedyskutowane we Wprowadzeniu przesłanki z badań klinicznych u ludzi oraz z badań eksperymentalnych w modelach zwierzęcych wskazujące na zwiększoną wrażliwość chemoreceptorów obwodowych w niewydolności serca oraz udział tlenu azotu w modulowaniu tejże wrażliwości, lekarz Anna Langner-Hetmańczuk przedstawiła cele pracy, do których zaliczyła ocenę wpływu donora tlenu azotu (nitrogliceryna) na: 1) chemowrażliwość obwodową; 2) zmienność rytmu serca ; 3) odpowiedź hemodynamiczną i wentylacyjną u pacjentów z niewydolnością serca na hipoksję oraz 4) określenie zmiennych klinicznych wskazujących na chorych, którzy mogą odnieść szczególne korzyści z farmakologicznego obniżenia chemowrażliwości z wykorzystaniem nitrogliceryny. Założenia

i cele pracy zostały sformułowane prawidłowo i wskazują na dobrze przemyślany i przygotowany plan badawczy poparty dogłębną znajomością tematyki.

Przeprowadzone przez lekarz Annę Langner-Hetmańczuk badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu i objęło piętnastu mężczyzn z niewydolnością serca włączonych do badania w latach 2021-2023 w oparciu o zdefiniowane kryteria włączenia i wyłączenia. U chorych tych przeprowadzono skrupulatne badanie podmiotowe i przedmiotowe, rutynowe badania biochemiczne oraz ocenę echokardiograficzną. W celu pozyskania danych do analiz przedstawionych w pracy wykonano ciągłe rejestracje wentylacji płuc, kapnografii, saturacji, ciśnienia tętniczego, całkowitego oporu naczyniowego, rzutu serca oraz odpowiedzi tych parametrów na bodziec hipoksyczny podczas wlewu dożylnego 0,9% roztworu soli (placebo - kontrola) lub nitrogliceryny. Wlewy wykonywane były w sposób losowy, a badanie było zaślepione. Doktorantka w oparciu o uzyskane rejestracje analizowała odpowiedź wentylacyjną i hemodynamiczną na hipoksję (HVR), a także zmienność rytmu serca oraz odruch z baroreceptorów z wykorzystaniem metody sekwencyjnej, co umożliwiło pośrednią ocenę zmian w autonomicznym układzie nerwowym. Trzy ryciny prezentujące protokół badania, układ pomiarowy oraz zasadę pomiaru odpowiedzi wentylacyjnej na hipoksję uzupełniają opis metodyki i ułatwiają dalszą analizę pracy. Protokół badania jest dobrze przemyślany i odpowiedni do realizacji celów określonych w pracy. W ramach doświadczeń Doktorantka porównywała mierzone parametry podczas dożylnego wlewu nitrogliceryny względem wlewu placebo lub wartości wyjściowych, tak więc pacjenci stanowili własną kontrolę. Znajduje to odzwierciedlenie w dobrze dobranych testach statystycznych dla pomiarów powtarzanych, zarówno gdy używane są testy parametryczne, jak i nieparametryczne. Należy podkreślić, że przeprowadzenie opisywanych badań wymagało dobrej organizacji pracy, nie tylko wynikającej z rozbudowanej oceny klinicznej chorych, ale również z przeprowadzenia ciągłych rejestracji parametrów krążeniowo-oddechowych w układzie doświadczalnym z ekspozycją na hipoksję podczas wlewów dożylnych w grupie chorych obciążonych niewydolnością serca. Rozpoczęcie badań jeszcze w okresie obostrzeń związanych z pandemią COVID-19 niewątpliwie było również istotnym utrudnieniem w realizacji tego projektu.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są w systematyczny i spójny sposób opisane w ośmiu podrozdziałach tej części pracy oraz przedstawione w 15 tabelach i 4 rycinach. Do

najważniejszych obserwacji należy zaliczyć wykazanie zmniejszenia odpowiedzi wentylacyjnej (HVR) oraz ograniczenie odpowiedzi ciśnienia rozkurczowego (DBP/SpO₂) na hipoksję pod wpływem dożylnego wlewu nitrogliceryny w stosunku do kontrolnego wlewu 0,9% roztworu NaCl u pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzucania. Dodatkowo Doktorantka stwierdziła ujemną korelację pomiędzy wyjściową czułością odruchu z chemoreceptorów tętnicznych (ocenianą parametrem HRV), wartością spoczynkowej wentylacji minutowej (MV) oraz pomiędzy parametrem SDNN (standardowe odchylenie odstępów NN) a zmniejszeniem odpowiedzi HRV pod wpływem nitrogliceryny, co wskazuje, że najsilniejszy efekt hamowania chemoreceptorów obwodowych przez tlenek azotu uzyskano u pacjentów z wyjściowo najbardziej zwiększoną czułością odruchu oraz z najsilniejszym przesunięciem równowagi autonomicznej w kierunku układu współczulnego. Parametry te mogą potencjalnie wskazywać na chorych, którzy odniosą największe korzyści z hamowania odruchu z chemoreceptorów tętnicznych. Dotychczas w piśmiennictwie naukowym nie ma doniesień dotyczących wpływu tlenu azotu/jego donorów na czułość odruchu z chemoreceptorów obwodowych w populacji chorych z niewydolnością serca. W związku z tym uzyskane wyniki przez Doktorantkę są nowatorskie oraz spójne z wcześniejszymi doniesieniami z badań eksperymentalnych w modelach zwierzęcych niewydolności serca. Stanowią one doskonały punkt wyjścia do dalszej oceny donorów tlenu azotu w modulowaniu odruchu z chemoreceptorów tętnicznych w celach terapeutycznych oraz diagnostycznych, a więc mają też istotne znaczenie kliniczne. W ocenie recenzenta niezmiernie ciekawe byłoby rozszerzenie uzyskanych badań o bezpośrednią rejestrację aktywności układu współczulnego, np. poprzez pomiar MSNA, szczególnie że większość włączonych pacjentów miała zmniejszoną sercową odpowiedź współczulną ze względu na stosowanie beta-adrenolityków. Ponadto szereg uzyskanych istotnych korelacji pomiędzy parametrami klinicznymi (echokardiograficznymi i biochemicznymi) oraz krążeniowo-oddechowymi, a odpowiedziami wentylacyjną i hemodynamicznymi na hipoksję stanowią ciekawy punkt wyjścia do zaprojektowania badań wskazujących na występowanie związków przyczynowo-skutkowych.

Dyskusja przeprowadzona przez lekarz Annę Langner-Hetmańczuk uzyskanych wyników jest precyzyjna i przedstawia je w kontekście dotychczasowych badań klinicznych u ludzi jak również w odniesieniu do badań w modelach zwierzęcych. Na podkreślenie zasługuje interpretacja wyników poprzez odniesienie ich nie tylko do badań klinicznych, ale też do zjawisk hemodynamicznych, fizjologii, patofizjologii oraz farmakologii układu krążenia.

Naświetlenie wyników pracy doktorskiej przez pryzmat różnych mechanizmów, nie tylko zależnych od chemoreceptorów obwodowych, świadczy o krytycznym podejściu do analizy i interpretacji uzyskanych danych i szerokim spojrzeniu na zagadnienia związane z regulacją układu krążenia i niewydolnością serca. W podsumowaniu, przeprowadzenie dyskusji świadczy o dużej biegłości Doktorantki w doborze i analizie źródeł naukowych oraz pogłębionej znajomości zagadnień związanych z niewydolnością serca oraz nerwową regulacją układu krążenia.

Lista piśmiennictwa jest obszerna (181 pozycji), została dobrana i zastosowana poprawnie i odpowiednio do tematyki pracy badawczej. Należy podkreślić, że Doktorantka odwołuje się nie tylko do kluczowych aktualnych doniesień naukowych oraz obecnie obowiązujących wytycznych klinicznych, ale również przywołuje oryginalne prace de Castro dotyczące budowy histologicznej kłębków szyjnych oraz prace Heymans'a po raz pierwszy opisujące działanie odruchu z chemoreceptorów obwodowych. Moja główna uwaga dotycząca bibliografii związana jest z sugestią uwzględnieniem w przyszłych publikacjach prac polskiego fizjologa profesora Andrzeja Trzebskiego z połowy lat 90-tych XX wieku dotyczących hamującego wpływu tlenu azotu na aktywność kłębków szyjnych i nerwu zatokowego, które to prace są jednymi z pierwszych w piśmiennictwie światowym pokazujących efekt tlenu azotu *in vivo* w modelu zwierzęcym. Ponadto w przypadku odwoływania się do monografii naukowych lub podręczników akademickich, tak jak w przypadku podręcznika lekarskiego do fizjologii (Silverthron i Johnson, 2018, poz. 8 w bibliografii), wskazane byłoby odwołanie się do odpowiedniego rozdziału, w którym znajduje się przywoływana informacja. Pomimo tych nielicznych uwag, dobrane i prawidłowo użyte źródła wskazują na doskonałe zorientowanie Doktorantki w tematyce dotyczącej chemoreceptorów obwodowych, regulacji krążeniowo-oddechowej, aktywacji neurohormonalnej i niewydolności serca.

Moja ocena ogólna przedstawionej pracy doktorskiej przez Panią lekarz Annę Langner-Hetmańczuk jest wysoka. Tematyka pracy doktorskiej jest istotna zarówno poznawczo, jak i klinicznie. Przeprowadzone doświadczenia wniosły istotną nową wiedzę dotyczącą patofizjologii niewydolności serca oraz działania nitrogliceryny na wrażliwość odruchu z chemoreceptorów tętnicznych. Zaplanowanie, przeprowadzenie i interpretacja doświadczeń wymagało ogólnej i pogłębionej wiedzy teoretycznej, warsztatu klinicznego w prowadzeniu badań z udziałem chorych oraz dobrej organizacji pracy. W mojej ocenie całość pracy świadczy

o dobrym przygotowaniu teoretycznym i praktycznym do prowadzenia badań oraz o samodzielności naukowej lekarz Anny Langner-Hetmańczuk. Uzyskana przez Doktorantkę wyniki są bardzo ciekawe i nowe w skali światowej - wskazują na istotny udział tlenu azotu w regulacji chemowrażliwości obwodowej u pacjentów z niewydolnością serca, co może stanowić punkt wyjścia do dalszych prób farmakoterapii nacelowanej na modulowanie odruchu z chemoreceptorów tętnicznych.

Lektura tej ciekawej pracy doktorskiej o potencjalnie ważnym znaczeniu klinicznym nasuwa dwa pytania do Doktorantki:

1. Czy zwiększona odpowiedź wentylacyjna na hipoksję (HVR) u pacjenta z niewydolnością serca jednoznacznie wskazuje na zwiększoną odpowiedź współczulną?
2. Biorąc pod uwagę postępy w farmakoterapii niewydolności serca, czy obecnie stwierdzana zwiększona wrażliwość odruchu z chemoreceptorów tętnicznych w populacji chorych z niewydolnością serca ma takie samo znaczenie rokownicze jak opisywane w pierwszych pracach klinicznych?

Podsumowanie:

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani lekarz Anny Langner-Hetmańczuk, pt.: „Wpływ nitrogliceryny na chemowrażliwość obwodową u pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory” prezentuje wysoki poziom naukowy i **spełnia kryteria prac doktorskich określone w Art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.)**.

Z pełnym przekonaniem zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie Pani lekarz Anny Langner-Hetmańczuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na nowatorskie wyniki w skali światowej uzyskane przez Doktorantkę, wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie pracy.

dr hab. n. med. i n. o zdr. Tymoteusz Żera