

## OCENA

rozprawy doktorskiej lek. med. Macieja Klepuszewskiego pt. „Humoralne mechanizmy w doświadczalnym modelu tachyarytmicznego wstrząsu kardiogenego”.

Wstrząs kardiogeny jest krytycznym stadium niewydolności serca, w którym cechom hipoperfuzji narządów związanej z niewydolnością serca jako pompy towarzyszą objawy ich uszkodzenia. Przedłużający się wstrząs prowadzi do nieodwracalnych zmian w narządach i tkankach całego organizmu i zaburzeń przepływu krwi na poziomie mikrokrążenia co doprowadza do śmierci całego organizmu. Pełny obraz kliniczny wstrząsu kardiogenego rozwija się w czasie, poszczególne narządy i układy różnie odpowiadają na zaburzenia przepływu krwi a wiek chorego, współistniejące choroby i dysfunkcje narządów mogą modyfikować jego przebieg. Chory człowiek w stanie wstrząsu kardiogenego nie jest wdzięcznym obiektem badań doświadczalnych. Wobec ciężkości stanu oraz faktu bezpośredniego zagrożenia życia, pacjent wymaga pilnego i równoczesnego postępowania zarówno diagnostycznego jak i terapeutycznego, z uwzględnieniem konieczności wsparcia dla wielu narządów i układów, w celu zapewnienia możliwości przeżycia organizmu. Wobec braku możliwości usunięcia podstawowej przyczyny w postaci krańcowej dysfunkcji mięśnia sercowego należy liczyć się ze śmiercią chorego. Z tego względu ważnym obszarem badań nad wstrząsem kardiogenym są prace doświadczalne na zwierzętach. Wytworzono wiele różnych modeli zwierzęcych wstrząsu kardiogenego, w tym u różnych gatunków zwierząt, m. in. w celu oceny różnych aspektów zaburzeń neurohumoralnych, metabolicznych, funkcji miokardium, arytmogenezy czy oceny dysfunkcji narządowej.

Praca doktorska lek. Macieja Klepuszewskiego, oparta jest o eksperyment, zrealizowana została pod kierunkiem prof. dra hab. med. Jacka Gajka, uznanego w kraju i świecie polskiego elektrofizjologa o dużym dorobku naukowym, co na wstępie jest gwarantem wysokiej jakości merytorycznej pracy. Przedstawione mi do recenzji dzieło zredagowane zostało na 120 stronach, obejmujących 97 strony tekstu, 41 rycin, 15 tabel i 245 pozycji dobrze dobranego i aktualnego piśmiennictwa (najnowsze z 2024 roku), Praca jest napisana dobrym,

przystępnym językiem, wyróżnia się starannością edytorską i raportowania wyników. Brakuje mi jedynie w tej bardzo dobrze zredagowanej dysertacji numeru zgody komisji bioetycznej jak i wskazania źródeł finansowania pracy.

W obszernym wstępie pracy Doktorant przedstawia wspomniane zagadnienia, uwzględniając trzy główne modele niewydolności serca – model niedokrwienny, toksyczny oraz wywoływany szybką stymulacją serca. Rozdział ten zawiera ponadto obszerny opis czynności i funkcji układu endotelin oraz czynnika martwicy nowotworów. Rzeczowe a przy tym szerokie przedstawienie tematu jest dowodem dobrego przygotowania teoretycznego adepta pracy naukowej do przeprowadzenia badań.

Celem pracy opisanym w kolejnym rozdziale jest utworzenie modelu ostrej niewydolności serca/wstrząsu kardiogenego opartego o szybką stymulację komórek serca imitującą utrwalony częstoskurcz komorowy u świni rasy polskiej białej zwisłouchej z wykorzystaniem układu do stymulacji. Ponadto celem dysertacji jest zastosowanie utworzonego modelu do symulacji częstoskurczu komorowego przebiegającego ze wstrząsem kardiogenym w dwóch kontekstach klinicznych - w sercu uprzednio zdrowym oraz w trakcie rozwoju przewlekłej niewydolności serca rozwijanej w oparciu o długotrwałą stymulację oraz identyfikacja zachodzących reakcji humoralnych na przykładzie endoteliny-1 i czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF- $\alpha$ ) w trakcie wyżej opisanych doświadczeń i zestawienie ich z podstawowymi parametrami hemodynamicznymi, echokardiograficznymi, biochemicznymi oraz gospodarki kwasowo-zasadowej, zebranych w ich trakcie. Tak przedstawiony cel pracy jest w mojej ocenie niezwykle ambitny i klinicznie istotny. Jako recenzent podkreślić muszę trudności w wykonywaniu badań doświadczalnych u zwierząt, zwłaszcza dużych.

Doktorant wybrał jako model eksperymentalny *Sus scrofa domestica*. Kierował się wielkością serca, podobieństwami neurohumoralnymi i metabolicznymi układu krążenia, oraz możliwościami wyzwolenia dysfunkcji mięśnia sercowego pod wpływem modelowego wstrząsu kardiogenego. Z racji trudności otrzymania i utrzymania modelu wstrząsu u dużego zwierzęcia a także ze względów etycznych postępowaniem z wyboru było mnożenie liczby doświadczeń nie zaś liczby zwierząt doświadczalnych. Ponadto w przypadku świni domowej najbardziej istotnym czynnikiem ograniczającym czas trwania doświadczenia był stosunkowo szybki wzrost masy i wymiarów zwierzęcia, co również niosłoby ze sobą liczne problemy natury technicznej. Uważam wybór modelu doświadczalnego za bardzo celowy i jednocześnie

adekwatny do przeprowadzenia zaplanowanych badań. Wszystkie przeprowadzane procedury (znieczulenie, implantacja rozrusznika, procedury doświadczalne) szczegółowo opisane w materiałach i metodach były zgodne z zaleceniami NIH z 1985 roku i potwierdzone decyzją Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

W wynikach Doktorant przedstawił podstawowe parametry dla grupy A (sesje doświadczalne S1-S6, bez przewlekłej stymulacji) i grupy B (sesje doświadczalne S7-S10, podczas ciągłej stymulacji po sesji S6 z częstotliwością 160/min) wraz z ich kategoryzacją na etapy zerowy (0, przed RVP), eksperymentalny (E, podczas RVP) i końcowy (Z, tuż po zakończeniu RVP). W zakresie parametrów *hemodynamicznych* (RR, CO, TPR) Doktorant stwierdził, że włączenie RVP powodowało istotne ↓ SBP i DBP w grupie A, natomiast nie w B z zaznaczeniem, że parametry w tej ostatniej z wymienionych były i tak istotnie niższe niż w grupie A. Dodatkowo udowodnił, że wzrastająca częstotliwość stymulacji – np. maksymalna PR w grupie B prowadzi do obniżenia DBP i MAP względem etapu zerowego. Nie zaobserwował obniżenia saturacji pomiędzy etapami 0 i E, chociaż zaobserwowano jej wzrost w grupie B podczas stymulacji prawej komory. Jeśli chodzi o parametry echokardiograficzne to Doktorant stwierdził, że w etapie E doszło do ↓ wartości LVIDd i EDV względem etapu 0 i Z ale tylko w grupie A. Natomiast stwierdził podczas etapu E wyższe wartości tych parametrów w grupie B w porównaniu z grupą A. Średni wymiar LVIDd w grupie A był istotnie mniejszy niż w grupie B, a podobne zależności zaobserwowane w przypadku średniej EDV. Również porównanie parametrów końcowoskurczowych bez podziału na etapy ukazało niższe wartości w grupie A względem B. Parametry EF i FS nie różniły się w trakcie realizacji kolejnych etapów, ale w etapach Z i E w grupie ze stymulacją były istotnie niższe niż w grupie A. Każdy z wymienionych wyżej parametrów w tej grupie był niższy niż w grupie A. Zarówno w grupie A jak i B podczas stymulacji zaobserwowano niższe wartości EF w porównaniu z innymi etapami. Natomiast w żadnej z grup nie obserwowano istotnych zmian EF i FS w trakcie kolejnych etapów. Podczas analizy statystycznej badanych substancji ET1 i TNFalfa doktorant zaobserwował istotną statystycznie dodatnią korelację między nimi dla wszystkich sesji doświadczalnych, bez podziału na grupy A i B. Doktorant stwierdził również, istotnie statystyczną dodatnią korelację między stężeniem TNFalfa i ET-1 dla wszystkich sesji doświadczalnych dla grupy B. W zakresie morfologii krwi, układu krzepnięcia, gazometrii i biochemii różnice istotne obejmowały ich wzrost w trakcie kolejnych etapów 0, E i Z w zasadzie tylko w grupie B. W zakresie biochemii tylko stężenia Cl nie różniły się pomiędzy etapami i

grupami. Natomiast K (wzrost O->E->Z) w grupie B, zaś parametry Na, Ca, glukozy wyższe w grupie A w odpowiednich etapach. Nie obserwowano różnic w stężeniu CK, CRP, PT, fibrynogenu, APTT jak i większości parametrów gazometrycznych. Jedynie odchylenia istotne statystycznie obejmowały porównania grupy A i B w etapie Z dla BE, tCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BB i BB płynu pozakomórkowego. Dodatkowo Doktorant zauważył incydenty wzbudzenia następujących arytmii: PEA, BiVT oraz zjawiska alternansu zespołów QRS, zwłaszcza przy wyższych częstotliwościach stymulacji i częściej w grupie B niż A.

Kolejny rozdział obejmuje dyskusję omawiającą wyniki w świetle własnych badań oraz danych z piśmiennictwa. Dyskusja jest merytoryczna, wskazuje na dobrą umiejętność posługiwania się literaturą. Jej ciekawy układ obejmuje szereg pytań obejmujących zagadnienia interpretacji protokołu doświadczalnego, walidacji doświadczalnej wstrząsu kardiogenego, metod pomiarowych parametrów hemo- i echokardiograficznych czy wystymulowanych zjawisk. Znajduje się w niej również podrozdział dotyczący ograniczeń przeprowadzonego eksperymentu, co należy uznać za wielką dojrzałość w analizie parametrów i porównywaniu z innymi danymi literaturowymi.

Wnioski, a właściwie punkty podsumowujące, są sformułowane prawidłowo i w pełni wypływają z badań. Doktorant przede wszystkim stwierdził, że zaproponowany model okazał się być skutecznym, pod kątem zmian hemodynamicznych, echokardiograficznych i metabolicznych w kontekście niewydolności serca prowokowanego szybką stymulacją komorową (VT-RVP). Z wniosków najważniejszy wydaje się też być dla dysertacji odczyn czerwonych krwinek wskazujący na brak zdolności do zwiększonej produkcji szpiku oraz stwierdzenie, że powtarzalne zaburzenia w krążeniu osłabiają odpowiedź humoralną pod postacią obniżenia stężenia TNF $\alpha$  i podwyższenia stężenia ET-1.

Z uwag, jedynie redakcyjnych, należy zauważyć drobne błędy językowe, najpewniej wynikające z automatycznego podstawiania tekstu. Również w zakresie piśmiennictwa nie ujednolicono zasad jego konstrukcji – okresowo autorzy są wpisywani drukowanymi literami, czasem wymieniani są wszyscy współautorzy a czasem tylko jeden z dodaniem et al., brak zakresu stron w wielu pozycjach. Recenzent nie zauważył również tekstowego podsumowania wyników dotyczących parametrów gazometrii krwi tętniczej, które są przedstawione jedynie w postaci tabeli 15 i rycin 29-36.

Wymienione podczas recenzji uwagi i zapytania nie wpływają na ostateczną, bardzo wysoką ocenę merytoryczną pracy. Tytuł bowiem pracy w pełni stanowi odzwierciedlenie

tekstu. Praca stanowi znaczący wkład w badania eksperymentalne z zakresu tachyarytmicznego modelu wstrząsu kardiogennego, doprowadzającego do niewydolności serca i analizie mechanizmów humoralnych. Doktorant włożył w przeprowadzone badania bardzo dużo pracy, dobrze to udokumentował, a znając jego dotychczasowy dorobek naukowo-kliniczny, jestem pewien, że poszerzył swoje doświadczenia i umiejętności badawcze na tyle, by podejmować w przyszłości następne wyzwania naukowe.

Rozprawa spełnia ustawowe warunki stawiane pracom na stopień doktora nauk medycznych określone w art. 13 ust.1 ustawy z dn. 14-03-2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Dodatkowo jej nowatorstwo polegające na eksperymentalnym doświadczeniu CHF w wyniku RVP 160/min, wręcz benedyktyńska ocena parametrów hemodynamicznych, elektrokardiograficznych, echokardiograficznych i neurohumoralnych w pełni zasługują na wyróżnienie. Stwierdzam, że Doktorant posiadał w stopniu ponad standardowym umiejętności potrzebne do samodzielnego projektowania, analizowania i pisania prac naukowych.

Na tej podstawie przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego i. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Dariusz Kozłowski

Prof. dr hab. med. Dariusz Kozłowski  
specjalista chorób wewnętrznych  
kardiolog, hipertensjolog  
6562612