

UNIwersytet Medyczny w Łodzi

I Katedra Ginekologii i Położnictwa

Klinika Patologii Ciąży

ul. Wileńska 37, 94-029 Łódź, tel. fax. (48) (42) 687-84-97

prof. dr hab. med. Agata Karowicz-Bilińska.

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lekarz Katarzyny Pankiewicz

pt.: „*Udział galektyny 3 w rozwoju stanu przedrzucawkowego*”.

Patomechanizm rozwoju stanu przedrzucawkowego jest od wielu lat przedmiotem badań naukowych, lecz pomimo to nadal nie został do końca wyjaśniony. Poważne powikłania tego stanu oraz brak skutecznych metod predykcyjnych czyni to zagadnienie ciągle ważnym problemem położniczym.

Przedstawiona mi od oceny rozprawa doktorska napisana została w sposób typowy, podzielona na wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, wnioski i dyskusję raz uzupełniona streszczeniami w języku polskim i angielskim licząc w sumie wraz z wykazami 130 stron.

Autorka we wstępie liczącym 27 stron omawia wybraną jako temat rozprawy galektynę 3 w aspekcie jej budowy i funkcji, a także roli, jaką spełnia w chorobach układu sercowo-naczyniowego. Następnie omawia mało poznaną rolę galektyny 3 podczas ciąży.

Jako białko należące do grupy białek lektynowych o działaniu antyapoptotycznym w odniesieniu do lokalizacji cytoplazmatycznej, spełnia ono również inne funkcje w lokalizacji jądrowej, czy zewnątrzkomórkowej. Autorka podkreśla rolę tego białka w procesach włóknienia czy odpowiedzi zapalnej.

Omawiając rolę galektyny 3 w chorobach układu sercowo-naczyniowego Doktoranta zwraca uwagę na procesy włóknienia zachodzące poprzez stymulację kolagenu typu I, prowadzące do niewydolności serca. Zauważyła również przydatność galektyny 3 jako markera w innych chorobach serca, również w przypadkach nadciśnienia tętniczego, gdzie jest ona markerem remodelingu mięśnia sercowego.

Analizując wiedzę na temat obecności tego białka podczas ciąży wysnuwa przypuszczenie, że w związku z największą jego ekspresją około 12 tygodnia ciąży oraz wysoką ekspresją w obrębie pozakosmkowego trofoblastu czy wzrostem ekspresji podczas niedotlenienia, może

ono być związane z przypadkami nieprawidłowego remodelingu naczyń spiralnych na skutek nieprawidłowej inwazji trofoblastu.

Kolejną część wstępu stanowi omówienie definicji i epidemiologii stanu przedrzucawkowego. Nie mogę zgodzić się z twierdzeniem, że „u kobiet, u których rozwinię się preeklampsja nie dochodzi do inwazji trofoblastu, co skutkuje brakiem przekształcenia naczyń spiralnych”- myślę, że należałoby uznać że inwazja trofoblastu jest zaburzona i znaczna część naczyń nie staje naczyniami niskooporowymi.

Doktorantka następnie omawia rolę czynników pro i anty-angiogennych z głównym naciskiem na rolę VEGF [śródbłonkowy czynnik wzrostu], PlGF [łożyskowy czynnik wzrostu], sFlt-1 [rozpuszczalna kinaza tyrozynowa] oraz sEng [rozpuszczalna endoglina] w mechanizmie powstawania preeklampsji. Omawia również krótko rolę układu immunologicznego, stresu oksydacyjnego i czynników genetycznych w patogenezie stanu przedrzucawkowego, a także profilaktykę i leczenie stanu przedrzucawkowego.

W kolejnej części wstępu Doktorantka omawia powikłania stanu przedrzucawkowego, wśród nich skupia się na powikłaniach kardiologicznych, zwracając uwagę na zaburzenia funkcji rozkurczowej lewej komory. Podkreśla również istnienie zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego oraz chorób nerek u kobiet po przebytych stanie przedrzucawkowym. Na zakończenie wstępu Doktorantka uzasadnia podjęcie tych badań jako próbę ustalenia czy galektyna 3 jest markerem, czy raczej przyczyną wystąpienia stanu przedrzucawkowego.

Kolejną częścią dysertacji są cele pracy. Doktorantka zawarła w nich ocenę badanych parametrów biochemicznych w surowicy: galektyny 3, sFlt-1, PlGF, galektyny 3 w łożysku, Cystatyny C, kreatyniny i GFR, NT proBNP oraz ocenę cech wczesnej dysfunkcji mięśnia sercowego i wczesnego uszkodzenia nerek. Ważnym celem jest również ocena wpływu galektyny 3 na stężenia czynników pro i antyangiogennych oraz na ekspresję galektyny 3 w łożysku. Cele te, jasno postawione, powinny umożliwić odpowiedź na hipotezę badawczą twierdzącą, że podwyższone stężenie galektyny 3 jest efektem nieprawidłowej placentacji, a nie istniejącego wcześniej uszkodzenia mięśnia sercowego.

Kolejną częścią dysertacji jest rozdział opisujący materiał badawczy i metody.

Grupa badana składała się z 77 pacjentek, z czego u 39 pacjentek rozpoznano stan przedrzucawkowy. Przyjęte kryteria włączenia i wyłączenia do grup były prawidłowe i gwarantowały ich jednorodność. Opis metod badawczych dotyczący oznaczeń biochemicznych jest syntetyczny, a badania oparte zostały na użyciu nowoczesnych, gotowych zestawów, gwarantuje powtarzalność wyników i ich wysoką jakość.

Opis badania echokardiograficznego serca oparty został o wytyczne amerykańskiego Towarzystwa Echokardiograficznego oraz Europejskiego Związku Obrazowania Sercowo-Naczyniowego, co również obiektywizuje uzyskane wyniki badań.

Następnie opisana jest metoda oceny ekspresji galektyny 3 w łożysku.

Użycie powszechnie uznawanych za najlepsze odczynników firmy DAKO pozwoliło z pewnością na uzyskanie czytelnych, prawidłowo wybarwionych preparatów, a skala IRS użyta do oceny intensywności odczynu jest powszechnie stosowana.

Metody analizy statystycznej dobrane zostały w sposób prawidłowy pozwalając na ocenę zależności, również dla małych grup badanych oraz korelacji między ocenianymi parametrami.

W rozdziale „Wyniki” Doktorantka najpierw charakteryzuje porównywane grupy, uzyskując istotną różnicę w wieku kobiet oraz wartości BMI. Stwierdziła ona, że w grupie z rozpoznaną preeklampsją wiek ciążowy był niższy, a ciężarne miały istotnie wyższy wskaźnik BMI. Liczebność kobiet z postacią wczesną i późną preeklampsji była podobna. Stwierdziła również, że u ponad połowy pacjentek stosowano monoterapię metyldopą, a u pozostałych terapię wielolekową. Wśród powikłań ciąż stwierdzono istotnie wyższy odsetek hypotrofii wewnątrzmacicznej w grupie ze stanem przedrzucawkowym oraz występowanie w tej grupie zespołu HELLP. Oceniając czas trwania ciąży w momencie jej zakończenia Doktorantka stwierdziła istotnie krótszy czas trwania ciąży w grupie z preeklampsji oraz wyższy odsetek wcześniactwa i zakończenia ciąży drogą cięcia cesarskiego. Te wyniki potwierdzają ciężkość tego powikłania ciąży. Analizując wyniki neonatologiczne stwierdzono niższą masę urodzeniową oraz większą częstość konieczności pobytu noworodka na Oddziale Intensywnej Opieki .

Porównując stężenia badanych parametrów biochemicznych Doktorantka stwierdziła istotnie wyższe stężenie galektyny 3, NT-proBNP oraz sFlt-1 u kobiet z grupy badanej, a współczynnik sFlt-1 do PIGF wyższy w grupie kontrolnej i stężenie PIGF było również wyższe w tej grupie. Grupa badana charakteryzowała się również wyższym stężeniem Cystatyny C i kreatyniny oraz istotnie niższą wartością eGFR.

Następnie Doktorantka przeanalizowała parametry oceny echokardiograficznej uzyskując istotne różnice między ocenianymi grupami.

Ocenie poddała również ekspresję galektyny 3 w łożyskach, [a nie w tkance łożyskowej] stwierdzając istotnie wyższą jej ekspresję zarówno w trofoblaście pozakosmkowym jak i syncytiotrofoblaście w grupie z preeklampsją. Ekspresja w pościelisku w obydwu grupach była niska i nie wykazywała różnic między grupami.

Następnie została przeprowadzona analiza zależności poszczególnych badanych parametrów w zależności od wieku ciążowego. Doktorantka stwierdziła korelację między wzrostem stężenia galektyny 3, a wzrostem wieku ciążowego kobiet z grupy kontrolnej, nie stwierdziła takiej zależności w grupie badanej. Wartości NT-proBNP i sFlt-1 korelowały ujemnie, a wartości PIGF dodatnio z wiekiem ciążowym u kobiet z grupy badanej.

W ocenie parametrów echokardiograficznych Doktorantka uzyskała zależność między wiekiem ciążowym, a frakcją wyrzutową i wskaźnikiem funkcji rozkurczowej E/e w grupie kontrolnej. Stwierdziła również, że podwyższone wartości galektyny 3 nie korelowały z cechami wczesnej dysfunkcji mięśnia sercowego i nerek. Poszukując zależności między stężeniem galektyny 3 w surowicy, a jej ekspresją w łożysku stwierdzono jedynie korelację w zakresie syncytiotrofoblastu w grupie badanej. Analizując związek między czynnością mięśnia sercowego i nerek oraz stężeniem galektyny 3, a zaburzeniem proporcji markerów stanu przedrzucawkowego, określanych stanem angiogennym, Doktorantka stwierdziła zależność między stężeniem NT-proBNP, a stanem angiogennym w grupie badanej.

Ocena zależności ekspresji galektyny 3 od stężenia sFlt-1 wykazała związek w zakresie EVT w grupie badanej.

W kolejnej części wyników Doktorantka analizuje zależności między badanymi parametrami biochemicznymi, a postacią stanu przedrzucawkowego –wczesną i późną. Wykazała różnice między stężeniami NT-proBNP, sFlt-1 oraz współczynnika PIGF/ sFlt-1, uzyskując istotnie wyższe wartości, a w przypadku PIGF niższe wartości w postaci wczesnej. Nie stwierdziła różnic w ekspresji galektyny 3 w łożyskach w zależności od postaci stanu przedrzucawkowego.

Analiza badanych parametrów z uwzględnieniem pacjentek, u których rozwinął się zespół HELLP wykazała istotny wzrost stężenia kreatyniny oraz obniżoną ekspresję galektyny 3 w EVT łożyska.

W kolejnej części pracy Autorka przedstawiła dostępne informacje dotyczące zależności między wiekiem, czasem trwania ciąży, rodnością oraz BMI a stanem przedrzucawkowym i badanymi przez Nią parametrami. Poddała analizie wpływ otyłości na zaburzenia metaboliczne i immunologiczne oraz preeklampsji na przebieg ciąży i stan noworodka. Obszernie omówiła zmiany w zakresie równowagi pro i antyangiogennej oraz mechanizm powstawania stanu angiogennego opierając się na nowym piśmiennictwie. Zwraca tu uwagę na istotną rolę stresu oksydacyjnego w komórkach trofoblastu jako pierwotnej przyczyny tego zaburzenia. Wyciąga również wnioski, że aktywność antyangiogenna w przebiegu preeklampsji odpowiada klinicznym wskaźnikom ciężkości choroby. Dalsza część dyskusji

poświęcona cechom dysfunkcji mięśnia sercowego omawia obserwowane zwiększenie grubości przegrody międzykomorowej oraz tylnej ściany lewej komory jako wyrazu remodelingu mięśnia sercowego.

Doktorantka szeroko omawia znaczenie NT-proBNP, który będąc prohormonem natriuretycznym bierze udział w regulacji hemostazy w aspekcie ciśnienia i objętości krwi krążącej. Parametry czynności nerek i zaburzenia wynikające ze stanu przedrzucawkowego zostały wnikliwie omówione ze szczególnym uwzględnieniem cystatyny C.

Przeanalizowała następnie galektynę 3 w aspekcie stężeń w surowicy i z jej ekspresji w łożysku oraz jej rolę w indukcji stanu przedrzucawkowego. Najważniejszą obserwacją było określenie związku między ekspresją galektyny 3 głównie w syncytiotrofoblaście łożyska z jej stężeniem we krwi ciężarnej. Nasilone uwalnianie do krwiobiegu matki mikrocząstek syncytiotrofoblastu indukujących odpowiedź zapalną jest postrzegane jako czynnik indukujący stan przedrzucawkowy. W podsumowaniu omówienia funkcji galektyny 3 w patogenezie stanu przedrzucawkowego Doktorantka sugeruje, że jej rola może polegać na tworzeniu mechanizmu kompensacyjnego wobec istniejących niekorzystnych dla rozwoju ciąży zmian zachodzących w łożysku.

Zakończenie dysertacji stanowi 7 wniosków, które są odpowiedzią na postawione cele pracy – w liczbie 9. Najważniejsze, które w zupełności wystarczyłyby, aby podsumować badania to wnioski 5, 6 i 7. Pozostałe są wprawdzie odpowiedzią na szeroko wcześniej przedstawione cele pracy, ale są bardziej omówieniem uzyskanych wyników badań. Zastrzeżenia te nie umniejszają w żaden sposób wartości merytorycznej rozprawy.

Podsumowując stwierdzam, że zarówno dobór tematu stanowiącego ważne wyzwanie i ciągle nierozwiązany problem diagnostyczno-leczniczy, wartość merytoryczna przedstawionych badań i ich nowatorski charakter oceniam bardzo wysoko.

Stwierdzam więc, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ustępl ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65,poz595 z późn. zm).

Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Matki i Dziecka o skierowanie rozprawy doktorskiej lekarz Katarzyny Pankiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnoszę również o wyróżnienie niniejszej pracy ze względu na jej nowatorski charakter i dużą wartość zarówno poznawczą, jak i użyteczną.

Łódź 10 lutego 2020.

Prof. dr hab. Agata Karowicz-Bilińska



5