

Prof. dr hab. n. med. Mirosław Kowalski
Narodowy Instytut Kardiologii Stefana kardynała Wyszyńskiego -
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Alpejska 42
04-628 Warszawa

Warszawa, 2021-01-15

Ocena pracy doktorskiej lek. med. Ewy Szczerby pt:

„mikroRNA w adaptacji układu krążenia do przeciążenia objętościowego i ciśnieniowego u ciężarnych”

Współczesna medycyna kliniczna coraz śміielej poddaje analizie mechanizmy molekularne, próbując określić ewentualny związek pomiędzy identyfikowanymi na poziomie komórkowym szlakami, a funkcją narządów i układów. Taki kierunek badań wydaje się nieunikniony, zwłaszcza że dysponujemy coraz bardziej wyrafinowanymi metodami charakteryzującymi procesy fizjologiczne i patofizjologiczne. Praca lek. med Ewy Szczerby wpisuje się w tę dziedzinę. Autorka podjęła się analizy bardzo ważnego klinicznie zjawiska – adaptacji układu krążenia do przeciążenia objętościowego i ciśnieniowego, występujących w warunkach ciąży fizjologicznej oraz powikłanej nadciśnieniem tętniczym. Autorka wykorzystała w swojej pracy oznaczenie mikroRNA, jednoniciowych cząsteczek uzyskiwanych z surowicy krwi, mogących pełnić rolę wartościowego biomarkera.

Praca pochodzi z Zakładu Kardiologii Instytutu Matki i Dziecka. Przedmiotem rozprawy są trzy publikacje z lat 2018-2020, w których lek. med. Ewa Szczerba była pierwszym autorem i współautorem. Łączny impact factor prac składających się na rozprawę doktorską wynosi 3,314. Projekt był finansowany z grantu Narodowego Centrum Nauki. Rozprawa jest zwięzła. Autorka do opublikowanych już artykułów dołączyła opis w języku polskim i angielskim zawierający wprowadzenie, cele rozprawy, stosowaną metodologię, wyniki i podsumowanie. Głównym wątkiem przeprowadzonej przez autorkę analizy jest ocena zachowania się cząsteczek mikroRNA regulujących funkcję kardiomiocyta. Autorka stawia pytanie, czy mikroRNA może uczestniczyć w regulacji układu krążenia w ciąży i warunkować prawidłowy, bądź nieprawidłowy jej rozwój.

Cel nadrzędny pracy jest jak najbardziej słuszny, gdyż uwaga naukowców w ostatnich latach coraz częściej skupia się na regulatorach ekspresji różnych białek metabolicznych, w tym mikroRNA. Autorka we wprowadzeniu pisze o przeciążeniu objętościowym układu krążenia w okresie ciąży i zmianach adaptacyjnych – powiększeniu jam serca, pogrubieniu ścian mięśnia lewej komory, zmianach funkcji skurczowej i rozkurczowej. Autorka podkreśla brak procesów włóknienia w ciąży fizjologicznej. Cele rozprawy są jasno zdefiniowane i zakładają stworzenie modelu ekspresji mikroRNA,

związanych z przerostem oraz przerostem i włóknieniem miokardium u kobiet w ciąży fizjologicznej i u kobiet z nadciśnieniem tętniczym wklajającym ciążę. Wartościowym, w mojej ocenie celem, i to dobrze, że autorka taki sobie wyznaczyła, była korelacja ekspresji badanych mikroRNA z parametrami echokardiograficznymi, określającymi morfologię i funkcję mięśnia sercowego. W tym zakresie bowiem zawiera się bardzo konkretne odniesienie mechanizmów molekularnych do funkcji układu krążenia, ocenianej za pomocą najbardziej typowej i bezpiecznej dla ciężarnej metody. Metodologia badań biochemicznych została szczegółowo opisana w zakresie pobrania próbki krwi, odwirowania, zamrożenia surowic. Przedstawiono również sposób wyliczenia wartości mikroRNA w przyjętych kategoriach: ekspresji, poziomów ekspresji i tzw. krotności.

Populacja badana w przedstawionych do oceny pracach wynosi 61 kobiet w trzecim trymestrze ciąży fizjologicznej, 19 kobiet niebędących w ciąży oraz 31 kobiet w ciąży powikłanej nadciśnieniem tętniczym. Wyniki rozprawy autorka odnosi do już opublikowanych publikacji. W pierwszym artykule autorka stawia tezę, że obciążenie objętościowe serca w okresie ciąży przebiega ze zmianami w macierzy zewnątrzkomórkowej i uruchomieniem mechanizmów adaptacyjnych. Autorka dowodzi, że składowe mikroRNA tzw. antywłóknieniowe są silniej wyrażone, a cząsteczki uczestniczące w procesach włóknienia wyhamowują swoją aktywność. Swoistym bohaterem grupy pierwszej, RNA ekstrahowanych z osocza była miR-101a, cząsteczka odgrywająca rolę protekcyjną przeciw mechanizmom włóknienia. Warto zaznaczyć, że grupa badana w tej pracy była mała i obejmowała jedynie 6 ciężarnych i 6 kobiet niebędących w ciąży. W drugiej pracy autorka poszukiwała zależności pomiędzy poziomami ekspresji mikroRNA, powodującego przerost oraz przerost i włóknienie a wybranymi parametrami echokardiograficznymi, określającymi anatomię lewej komory, lewego przedsionka, a także funkcję skurczową i rozkurczową miokardium. Ta interesująca praca obejmująca populację 61 pacjentek w trzecim trymestrze ciąży była opublikowana w Biomedical Reports. Praca trzecia spośród prac składających się na cykl ma charakter poglądowy i dotyczy bardzo ważnego klinicznie zagadnienia, stanowiącego poważne zagrożenie ciąży - stanu przedrzucawkowego. Autorzy tej pracy przeprowadzili wielowątkową analizę zjawisk molekularnych towarzyszących ciąży powikłanej nadciśnieniem tętniczym. Odnosząc się do wyników pracy jeszcze nie opublikowanej, autorka zwraca uwagę, że zdolności adaptacyjne układu krążenia matki w odpowiedzi na dysfunkcję łożyska odgrywają kluczową rolę w rozwoju stanu przedrzucawkowego. Autorka wskazuje na odmienną ekspresję mikroRNA u kobiet w ciąży powikłanej nadciśnieniem tętniczym ciążowym i nadciśnieniem przewlekłym. Obserwacja ta w moim przekonaniu niezwykle wzbogaca przedstawioną rozprawę i należy oczekiwać jej rychłej publikacji.

Praca lek.med Ewy Szczerby jest ważna klinicznie. Doniesień wykorzystujących mikroRNA dla charakterystyki zmian adaptacyjnych układu krążenia ciężarnej jest niewiele. Autorka stawia tezę, że cząsteczki mikroRNA mogą być brane pod uwagę jako biomarker i być wykorzystywane na przykład do skriningu stanu przedrzucawkowego. Lek.med Ewa Szczerba stworzyła wartościowy opis zmian molekularnych charakteryzujących odpowiedź kliniczną w ciąży. Opis ten może być systematycznie uzupełniany i uwzględniać również ekspresję mikroRNA we wcześniejszych trymestrach ciąży oraz ekspresję u kobiet z innymi modelami obciążenia, na przykład modelem większego obciążenia objętościowego wynikającego z towarzyszącej ciąży wady przeciekowej lub niedomykalności trójdzielnej.

Pragnę z obowiązku recenzenta zwrócić uwagę na wybrane elementy pracy, które uważam za słabsze. Charakterystyka zmian w układzie krążenia w okresie ciąży mogłaby być

pełniejsza i uwzględniać zmiany patomorfologiczne i hemodynamiczne, pojawiające się w warunkach zwiększonego obciążenia ciśnieniowego, a więc w modelu poddanym analizie molekularnej. Brakuje mi także we wprowadzeniu szerszego spojrzenia na rolę mikroRNA w diagnostyce kardiologicznej. Czy udało się udowodnić rolę mikroRNA w innych modelach przeciążenia objętościowego i ciśnieniowego? Autorka w swojej pracy analizuje włóknienie miokardium. Stawia tezę, że miR-101a pełni funkcję ochronną, uczestnicząc w procesach ograniczenia włóknienia miokardium. Podkreśla również, że częstość ekspresji miR-101a jest niższa, przede wszystkim u ciężarnych z nadciśnieniem tętniczym ciążowym. Czy znana jest autorce korelacja tej cząsteczki z danymi dotyczącymi morfologii i funkcja serca? Taka charakterystyka wydaje mi się interesująca a danych na temat korelacji w podgrupach ciężarnych z nadciśnieniem tętniczym przewlekłym i nadciśnieniem tętniczym ciążowym nie znalazłem. Wśród parametrów echokardiograficznych nie znalazł się pomiar odkształcenia (strain), jeden z najbardziej interesujących parametrów charakteryzujących włóknienie. Sięgniecie po technikę echokardiografii tkankowej i wykorzystanie wartości GLS – global longitudinal strain, parametru łatwego do uzyskania mogłoby wzbogacić prowadzoną analizę. Spośród uwag edytorskich pragnę wyrazić przekonanie, że czytelnik mógłby lepiej śledzić zachowanie się cząsteczek mikroRNA, gdyby umieszczone one były w tabeli i gdyby były podzielone na grupę prowadzących do przerostu, przerostu i włóknienia oraz grupę działających protekcyjnie.

Podsumowując, praca lek. med. Ewy Szczerby porusza istotną problematykę kliniczną, jest dobrze zaplanowana, spójna i starannie przeprowadzona. Zamieszczone powyżej uwagi stanowią przyczynek do dyskusji i nie umniejszają wartości rozprawy. Mechanizmy molekularne w kardiologii powinny być badane. Cząsteczki mikroRNA w ciąży warunkują adaptację do zwiększonego obciążenia objętościowego a zmieniona ekspresja wybranych może być rozumiana jako sygnał zagrożenia dla ciąży fizjologicznej. Praca lek. med. Ewy Szczerby spełnia kryteria stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i z pełnym przekonaniem wnioskuję o dopuszczenie autorki do dalszych etapów postępowania.

Z wyrazami szacunku

Prof. dr hab. n.med. Mirosław Kowalski
Klinika Wad Wrodzonych Serca
Narodowy Instytut Kardiologii- Państwowy Instytut Badawczy

Z-ca Kierownika
Kliniki Wad Wrodzonych Serca
Instytutu Kardiologii
Prof. dr hab. med. Mirosław Kowalski