



dr hab. n.med. prof.nadz. PUM
Małgorzata Peregud-Pogorzelska
Klinika Kardiologii PUM W Szczecinie

Szczecin 14.01.2021

RECENZJA

Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych, przygotowana na zlecenie Rady Naukowej Instytutu Matki i Dziecka

AUTOR ROZPRAWY: lekarz Ewa Szczerba

PROMOTOR: : prof.dr.hab. n.med. i n. o zdr. Anna Fijałkowska

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych w zakresie medycyny pod tytułem

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

Zrozumienie funkcji biologicznej mikroRNA, jak również wykorzystanie zdobywanych informacji do celów diagnostycznych czy leczniczych wynika bezpośrednio z zainteresowania naukowców i klinicystów obszarami nauki związanymi z RNA. W kontekście kodujących cząsteczek RNA bardzo często określa się cały obszar badawczy jako transkryptomikę. MikroRNA-jak wskazują badania doświadczalne -odgrywają kluczową rolę w regulacji ekspresji wielu genów. Biorą udział w wielu procesach biologicznych takich jak proliferacja, różnicowanie komórek, angiogeneza czy apoptoza. Doniesienia naukowe wskazują, że mikroRNA znamienne determinują fizjologię i patofizjologię serca: mogą również mieć znaczenie diagnostyczne jako nowe markery użyteczne w rozpoznawaniu chorób układu sercowo-naczyniowego.

Praca doktorska lekarza medycyny Ewy Szczerby oparta jest na trzech pracach o łącznym IF-3,314 z punktacją MNiSW: 110,00 pkt. Tworzą ją następujące rozdziały: wykaz publikacji będących przedmiotem rozprawy doktorskiej, lista skrótów, wprowadzenie, cele rozprawy, metody, wyniki i podsumowanie w języku polskim i w języku angielskim oraz publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej i oświadczenia współautorów prac określające indywidualny wkład każdego z nich w ich powstanie.

We wprowadzeniu autorka przedstawia zmiany adaptacyjne w sercu (poszerzenie jam serca z pogrubieniem ścian lewej komory oraz dysfunkcję rozkurczową mięśniówki lewej komory) do których dochodzi w fizjologicznej ciąży, kiedy występuje tylko przeciążenie objętościowe, a następnie zwraca uwagę na dołączanie się przeciążenia ciśnieniowego u kobiet, u których rozwija się

nadciśnienie tętnicze wyindukowane ciążą lub jeżeli występuje ono przed ciążą. Doktorantka w pracy poglądowej zwraca szczególną uwagę na zaawansowane formy ciążowego nadciśnienia jakim jest stan przedzucawkowy mogące powodować zmiany w układzie krążenia zagrażające życiu kobiety. W związku z odwracalnością zmian w układzie krążenia do których dochodzi u kobiet w ciąży fizjologicznej mówimy o tak zwanej fizjologicznej przebudowie (remodelingu), którego mechanizm lub mechanizmy molekularne do chwili obecnej nie są jeszcze dokładnie poznane. W świetle tych faktów interesujące stają się doniesienia o nowych, potencjalnie użytecznych markerach do których zalicza się mikroRNA, które odgrywają rolę w regulacji ekspresji genów, w różnych typach komórek poprzez degradację lub inhibicję translacji genów związanych z przerostem, uszkodzeniem i włóknieniem miokardium.

Cele pracy zostały jasno i prawidłowo sformułowane. Doktorantka postawiła sobie za zadanie określić ekspresję mikroRNA związanych z przerostem oraz z przerostem i włóknieniem miokardium u kobiet w ciąży fizjologicznej i nadciśnieniem tętniczym w ciąży.

Ponadto porównała ekspresję mikroRNA związanych z przerostem oraz związanych z przerostem i włóknieniem mięśnia u kobiet w ciąży fizjologicznej i zdrowych kobiet niebędących w ciąży. Dokonała także korelacji ekspresji badanych mikroRNA z morfologią i funkcją mięśnia sercowego w badaniu echokardiograficznym.

Praca została wykonana na grupie 61 kobiet w trzecim trymestrze ciąży fizjologicznej, 19 zdrowych kobietach niebędących w ciąży oraz 31 kobietach z nadciśnieniem tętniczym związanym z ciążą. Projekt był wykonany w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki. Od każdej kobiety biorącej udział w badaniu pobierano 20 ml krwi żyłnej i wykonywano badanie echokardiograficzne.

Wyniki i wnioski zostały przedstawione w formie trzech publikacji, dwóch prac oryginalnych i jednej pracy poglądowej.

W pracy poglądowej pt. "Non-obstetric complications in preeclampsia", został przedstawiony aktualny stan wiedzy na temat powikłań związanych z wystąpieniem stanu przedzucawkowego stanowiącego jedną z głównych przyczyn zachorowalności i śmiertelności u ciężarnych. Mimo wieloletnich wysiłków nie udało się poznać jednoznacznych przyczyn choroby. Do bardzo istotnych powikłań w przebiegu stanu przedzucawkowego należą powikłania sercowo-naczyniowe, które mogą wystąpić w ciąży i połogu, a do których należy obrzęk płuc czy kardiomiopatia okołoporodowa. W ostatnich latach prowadzi się wiele badań próbujących wyjaśnić to zjawisko i wyselekcjonować ciężarne, u których ryzyko wystąpienia stanu przedzucawkowego jest największe. W związku z tym, że stan przedzucawkowy jest nieprawidłowością wynikającą z nieprawidłowej implantacji trofoblastu i dalszego rozwoju łożyska znajomość zmian adaptacyjnych do których dochodzi w ciąży prawidłowej i powikłanej nadciśnieniem jest bardzo istotna. Znajomość mechanizmów na poziomie molekularnym może pozwolić na szybką identyfikację tej grupy pacjentek i dalsze leczenie.

Kontynuacją tematu są dwie prace oryginalne.

W pracy pt. " Rise in antifibrotic and decrease in profibrotic microRNA protect the heart against fibrosis during pregnancy: A preliminary study" doktorantka badała ekspresję wybranych 11 mikroRNA (mikro RNA -21, mikroRNA -26a , mikroRNA -26b-5p, mikroRNA -29a-3p, mikroRNA- 29b-3p, mikroRNA -29c-3p, mikroRNA -101a, mikroRNA-146a, mikroRNA-208a, mikroRNA-223, mikroRNA-328) i ich związek z procesem włóknienia w grupie 6 kobiet w pojedynczej fizjologicznej ciąży w trzecim trymestrze i 6 kobiet niebędących w ciąży.

Uzyskane wyniki wykazały wzrost u ciężarnych w ciąży fizjologicznej o 244% poziomu ekspresji mikro RNA-101a, a spadek o 73% poziomu ekspresji mikro RNA-328. Wcześniejsze nieliczne publikacje wskazywały na możliwość ochronnego działania mikro RNA -101a w zapobieganiu apoptozie wywołanej hipoksją. Z kolei wysoki poziom mikroRNA -328 wpływał istotnie na proces włóknienia, co zostało wielokrotnie zaprezentowane w badaniach remodelingu pozawałowego. Poziom ekspresji pozostałych mikroRNA w obydwu badanych grupach kobiet był podobny.

Należy podkreślić, że w przypadku badanej grupy osób badanie miało charakter pilotażowy, a jego ograniczeniem co podkreślają autorzy była niewielka 12 osobowa grupa kobiet.

W kolejnej oryginalnej pracy pt. „ Downregulated expression of microRNAs associated with cardiac hypertrophy and fibrosis in physiological pregnancy and the association with echocardiographically-evaluated myocardial function”, w której pierwszym autorem jest lekarz Ewa Szczerba autorzy przeprowadzili analizę ekspresji mikroRNA związanych z przerostem (mikroRNA -1, mikroRNA -17-5, mikroRNA-22, mikroRNA-34a, mikroRNA- 124, mikroRNA-133a, mikroRNA-195, mikroRNA-199a-3p, mikroRNA-199b, mikroRNA-210, mikroRNA-222, i mikroRNA-1249) oraz z przerostem i włóknieniem mięśnia sercowego (mikroRNA -15b, mikroRNA-21, mikroRNA-26a, mikroRNA-29a, mikroRNA-29c, mikroRNA-30c, mikroRNA-101, mikroRNA146a, mikroRNA-191 mikroRNA-208a-5p i mikroRNA-328 w grupie 61 zdrowych kobiet w pojedynczej ciąży w trzecim jej trymestrze, w okresie maksymalnego przeciążenia objętościowego i u 19 zdrowych kobiet niebędących w ciąży. W prezentowanej pracy przedstawiono również korelację pomiędzy ekspresją prezentowanych mikroRNA z wynikami badań echokardiograficznych oceniających morfologię jak i funkcję czynnościową serca. Uzyskane wyniki przedstawiały zbliżone profile ekspresji badanych mikroRNA, podkreślając jednak różnicę w poziomach ekspresji niektórych z nich.

W grupie badanych ciężarnych niższą ekspresję obserwowano w przypadku mikroRNA-21, mikroRNA-30c oraz mikroRNA-328 zwiększających włóknienie miokardium, jak również zmniejszających, czego przykładem jest mikroRNA -222, którego obniżenie ekspresji było największe i wynosiło 62% Pozostałe wartości ekspresji zawierały się pomiędzy 40-48%.

Obniżoną ekspresję stwierdzono także w przypadku mikroRNA -195, którego rola wiąże się z przerostem kardiomiocytów, oraz mikroRNA -146a wpływającym na włóknienie i metabolizm mitochondrialny.

Wyniki korelacji pomiędzy echokardiograficznymi parametrami, a poziomem ekspresji badanych mikroRNA wskazują głównie na ich wpływ na parametry morfologiczne serca. Przykładem jest ekspresja mikroRNA -222, mikroRNA_30c, mikroRNA 1249 oraz mikroRNA 21 i ich wpływ na grubość ścian lewej komory w grupie ciężarnych.

Korelację pomiędzy parametrami funkcji rozkurczowej lewej komory takimi jak E/E' med. i E/E' lat stwierdzono w przypadku mikroRNA17-5.

Do trzech publikacji Doktorantka dołączyła jeszcze niepublikowane wyniki ekspresji badanych mikroRNA u kobiet (n=31) w ciąży powikłanej nadciśnieniem tętniczym i ich korelacje.

Wnioski z uzyskanych wyników badań w grupie kobiet ciężarnych z nadciśnieniem tętniczym lekarz Ewa Szczerba przedstawiła w podsumowaniu pracy.

Na podkreślenie zasługują wyniki, które wskazują, że profil mikroRNA w trzecim trymestrze ciąży fizjologicznej i w trzecim trymestrze ciąży u kobiet z nadciśnieniem tętniczym przewlekłym jest podobny. Występuje natomiast niższa ekspresja mikroRNA-101a u ciężarnych z nadciśnieniem tętniczym, który uczestniczy w mechanizmach włóknienia. Należy więc przyjąć, że za adaptację mięśnia sercowego u kobiet w ciąży fizjologicznej przy przeciążeniu objętościowym i u kobiet z nadciśnieniem tętniczym w ciąży gdy występuje przeciążenie objętościowe i ciśnieniowe odpowiedzialne są inne molekularne mechanizmy regulacyjne zależne od mikro-RNA.

Uzyskane wyniki Doktorantka prawidłowo odnosiła do światowej i polskiej literatury. Doktorantka zrealizowała wszystkie założone cele pracy, wysuwając poprawne wnioski, które odpowiadały w sposób właściwy postawionym w pracy celom.

Podsumowując pragnę zaznaczyć, że rozprawa dotyczy dobrze zdefiniowanego i ważnego problemu medycznego, a wyniki i wnioski w niej przedstawione są pionierskie i mają zastosowanie praktyczne. W przedstawionej mi do recenzji pracy nie znajdują istotnych nieprawidłowości. Jedynym jej ograniczeniem jest brak publikacji z uzyskanych wyników badań ciężarnych z nadciśnieniem tętniczym.

Praca spełnia w pełni kryteria rozprawy na stopień doktora nauk medycznych, dlatego wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Matki i Dziecka o dopuszczenie lekarz Ewy Szczerby do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony. Z uwagi na dużą wartość praktyczną i naukową pracy oraz fakt, że większość zawartych w niej wyników zostało opublikowanych w czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej o łącznym wskaźniku oddziaływania IF – 3,14 wnioskuję o jej wyróżnienie.

Prof. Przemysław Jędrzejko

