Klinika Chorób Wewnętrznych i Kardiologii
z Centrum Diagnostyki i Leczenia Żylnej Choroby Zakrzepowo Zatorowej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja pracy na tytuł doktora nauk medycznych „Płytki krwi jako źródło cytokin wpływających na patogenezę tętniczego nadciśnienia płucnego" lekarza Remigiusza Kazimierczyka, promotor pracy profesor dr hab. n. med. Karol Adam Kamiński, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku.

Tętnicze nadciśnienie płucne (PAH) stanowi rzadką postać nadciśnienia płucnego, a zapadalność na nie wynosi jedynie 2-4 przypadki/1 milion osób dorosłych rocznie. Jednak ze względu na złe rokowanie wymaga szczególnej uwagi. PAH obejmuje kilka niejednorodnych stanów, które łączy podobny obraz kliniczny, hemodynamiczny oraz podobne zmiany patomorfologiczne w mikrokrążeniu płucnym. Cechuje się ono obecnością przedwłośniczkowego nadciśnienia płucnego (średnie ciśnienie w tętnicy płucnej (mPAP) ≥25mmHg a ciśnienie zaklinowania w tętnicy płucnej, PCWP ≤15 mmHg), ale warunkiem postawienia rozpoznania jest wykluczenie innych potencjalnych przyczyn.

Etiologia prowadząca do powstawania zmian patologicznych w naczyniach płucnych, a dalej do wzrostu oporu w łożysku naczyń, nie jest całkowicie znana. Wśród opisywanych mechanizmów jako główne wymieniane są: dysfunkcja śródbłonka płucnego, wazokonstrykcja, remodeling naczyń płucnych z proliferacją i zwężeniem światła, lokalne stany zapalne oraz procesy zakrzepowo-zatorowe. Konsekwencją wzrostu oporu płucnego jest wzrost ciśnienia w prawej komorze, jej przeciążenie, przerost, rozstrzeń i zmniejszona pojemność minutowa. Zmniejsza się także napełnianie lewej komory. Niewydolność prawokomorowa jest najczęstszą przyczyną śmierci w PAH.

Obecnie w leczeniu PAH są stosowne przede wszystkim następujące grupy leków: antagoniści kanałów wapniowych, analogi prostacykliny, antagoniści receptorów dla endoteliny (endothelin receptor antagonist, ERA), stymulatory cyklazy guanylowej (riociguat) i inhibitory fosfodiesterazy typu 5 (PDE-5). Wpływają one na najważniejsze, znane patomechanizmy tej choroby, redukując skurcz naczyniowy, proliferację komórek śródbłonka i mięśni gładkich, jednak ich skuteczność jest ograniczona. Dalsze poznanie patofizjologii PAH może umożliwić poszukiwanie nowych, skuteczniejszych i bezpieczniejszych terapii nie tylko dla samego PAH, ale także dla innych form nadciśnienia płucnego.

Płytki krwi zawierają liczne czynniki wzrostu, cytokiny i substancje wazoaktywne w ziarnistościach, z których mogą być uwalniane w regulowany sposób po odpowiedniej stymulacji. Ziarnistości alfa zawierają między innymi selektynę P, TGF-β1, płytkowy czynnik wzrostu (PDGF), beta-tromboglobulinę, czynnik płytkowy 4, RANTES (CCL5), TNFα, IL-1α, SDF-1, IL-1β, TWEAK, fibrynogen i czynniki krzepnięcia V i XIII. Ziarnistości delta zawierają serotoninę (5-HT), wapń, ADP / ATP. Aktywacja

płytek, zwiększa także ekspresję powierzchniową różnych cząsteczek adhezyjnych, a także produkcję tromboksanu A2 (TXA2), co z kolei aktywuje inne płytki krwi, kaskadę krzepnięcia i powoduje skurcz naczyń krwionośnych. Krążące płytki krwi są również źródłem licznych cytokin regulujących procesy zapalne np. selektyny P oraz prawdopodobnie TWEAK (tumor necrosis factor like weak inducer of apoptosis), krążącej formy receptora interleukiny 6 (sIL-6R) i CXCL12 opisywanej również jako SDF-1 (stromal cel-dervied factor 1). Wykazano, iż osoczowe stężenie IL-6 koreluje z ciężkością PAH, jednakże dokładna rola IL-6 w procesach patogenetycznych choroby nadal pozostaje nieznana. Natomiast rola sTWEAK została potwierdzona w patogenezie przewlekłej niewydolności serca i miażdżycy.

Rozprawę doktorską lekarza Remigiusza Kazimierczyka stanowią 3 publikacje:

1. „The role of platelets in the development and progression of pulmonary arterial hypertension" Kazimierczyk R, Kamiński KA. Advances in Medical Sciences. 2018 Sep;63. (punkty MNiSW 15, IF =1,364);
2. „The significance of diminished sTWEAK and P-selectin content in platelets of patients with pulmonary arterial hypertension" Kazimierczyk R, Błaszczak P, Kowal K, Jasiewicz M, Knapp M, Szpakowicz A, Ptaszyńska-Kopczyńska K, Sobkowicz B, Waszkiewicz E, Grzywna R, Musiał WJ, Kamiński KA. Cytokine, 2018;107:52-58. (praca oryginalna) (punkty MNiSW 25, IF = 3,488);
3. „Increased platelet content of SDF-1alpha is associated with prognosis in patients with pulmonary arterial hypertension" Kazimierczyk R, Błaszczak P, Jasiewicz M, Knapp M, Ptaszyńska-Kopczyńska K, Sobkowicz B, Waszkiewicz E, Grzywna R, Musiał WJ, Kamiński KA. Platelets, 2018;4:1-7. (praca oryginalna) (punkty MNiSW 25, IF = 2,465).

Praca została zrealizowana Klinice Kardiologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Celem głównym była ocena udziału płytek krwi w patogenezie i przebiegu klinicznym tętniczego nadciśnienia płucnego jako źródła cytokin wpływających na procesy zapalne. Natomiast cele szczegółowe zostały określone jako: porównanie stężeń cytokin sTWEAK, selektyny P, IL-6, sIL-6R oraz SDF-1 w osoczu oraz w lizacie płytkowym u pacjentów ze zdiagnozowanym tętniczym nadciśnieniem płucnym, odniesienie ich do wyników w grupie osób zdrowych oraz ocena związku między wyjściowym stężeniem powyższych cytokin a rokowaniem pacjentów z PAH.

Do badania sumarycznie zostało włączonych 40 pacjentów z rozpoznanym tętniczym nadciśnieniem płucnym, z kolei grupę kontrolną stanowiła 30-osobowa populacja zdrowych ochotników dobrana pod względem płci i wieku. W pierwszej pracy oryginalnej prospektywnie włączono osoby do dwóch niezależnych grup: derywacyjnej i walidacyjnej. Grupa derywacyjna składała

się z 10 pacjentów z PAH oraz 15 zdrowych osób stanowiących podgrupę kontrolną, dopasowaną do płci i wieku. Grupa walidacyjna składała się 20 osób z PAH i 12 zdrowych ochotników. W drugiej pracy oryginalnej grupę badaną stanowiło 22 pacjentów z PAH, zaś grupę kontrolną – 18 zdrowych ochotników. Badania prowadzono w ramach projektów zatwierdzonych przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

W pierwszej pracy oryginalnej poddano analizie przede wszystkim: stężenia cytokin sTWEAK i selektyny P; natomiast w drugiej pracy oryginalnej: IL-6, sIL-6R, SDF-1 w osoczu i w lizacie płytkowym. Ponadto wszyscy pacjenci mieli wykonane dodatkowe badania takie jak klasa czynnościowa wg WHO, dystans 6-minutowego testu marszu, parametry echokardiograficzne (objętość prawego przedsionka, TAPSE), stężenie BNP w surowicy krwi.

Kliniczny punkt końcowy (CEP) zdefiniowano jako śmierć pacjenta lub hospitalizacja z powodu progresji PAH / potrzeba eskalacji leczenia swoistego PAH. W pierwszej pracy oryginalnej obserwacja kliniczna trwała 19,54 ± 4,56 miesięcy w grupie derywacyjnej i 14,59 ± 3,11 miesiąca w grupie walidacyjnej. Z kolei w drugiej pracy oryginalnej obserwacja kliniczna trwała 15,24 ± 4,26 miesięcy.

W pierwszej pracy oryginalnej w grupie derywacyjnej nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic między stężeniami sTWEAK i selektyny P w osoczu, stężenie sTWEAK w płytkach krwi i stężenie selektyny P w osoczu były istotnie niższe w grupie PAH niż u zdrowych osób, ponadto pacjenci z PAH wykazywali zmniejszoną liczbę płytek krwi. Natomiast stosunek stężenia sTWEAK / stężenie białka w lizacie płytkowym był istotnie niższy w grupie PAH niż w grupie kontrolnej. Pacjenci, u których wystąpił złożony punkt końcowy zdefiniowany jako śmierć lub hospitalizacja z powodu progresji PAH / eskalacja terapii swoistej PAH, w obu grupach (derywacyjnej i walidacyjnej) mieli istotnie statystycznie niższe wartości sTWEAK i P-selektyny w płytkach krwi niż pacjenci bez złożonego punktu końcowego. We wnioskach tej pracy autor zasugerował, że zmniejszona zawartość sTWEAK w płytkach krwi może być związana z gorszym rokowaniem.

W wynikach drugiej pracy oryginalnej pacjenci z PAH wykazywali znacznie wyższe stężenia IL-6 w osoczu niż osoby z grupy kontrolnej, podobnie płytkowe stężenia (podzielone przez zawartość białka całkowitego w lizacie płytkowym) były istotnie wyższe u pacjentów z PAH niż w grupie kontrolnej. Pacjenci ze złożonym punktem końcowym prezentowali istotne wyższe wartości zawartości SDF-1 w płytkach krwi niż pacjenci bez złożonego punktu końcowego. Przy użyciu analizy ROC wyznaczono wartość odcięcia dla stosunku SDF-1 / stężenie białka całkowitego dla pacjentów ze złożonym punktem

końcowym. Pacjenci z wartością tego stosunku > 2,27 wykazywali wyższe stężenie BNP, wyższe wartości mPAP, PVR, IL-6 (osocze, płytki krwi) oraz mieli gorsze rokowanie.

Zastosowane metody statystyczne są adekwatne do analizowanych parametrów i założonych celów. Wnioski wyciągnięte przez Doktoranta na podstawie przedstawionych wyników są prawidłowe i zgodne z założonymi celami pracy.

Trzecia publikacja wchodząca w skład rozprawy doktorskiej jest pracą przeglądową, w której doktorant posumował dotychczasową wiedzę dotyczącą roli płytek i śródbłonka w rozwoju i progresji płucnego nadciśnienia tętniczego. Zawiera ona krótki opis patogenezy PAH, a dalej autorzy zwracają uwagę, że nie tylko wzrost, ale także spadek stężenia wydzielanych przez płytki cytokin może być związany rozwojem PAH. Z tego powodu zablokowanie aktywności płytek prawdopodobnie nie będzie korzystne w leczeniu PAH. Dokładna wiedza dotycząca patomechanizmów PAH może zdecydowanie pomóc w znalezieniu nowych terapii i poprawie rokowania pacjentów z tą chorobą. Powyższa praca stanowi niewątpliwie cenne uzupełnienie dwóch prac oryginalnych i podsumowanie cyklu stanowiącego rozprawę doktorską.

We wszystkich publikacjach stanowiących rozprawę doktorską udział doktoranta stawił ponad 50% (65% w pracy przeglądowej oraz 51% i 52% w pracach oryginalnych). Wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie przez lekarza Remigiusza Kazimierczyka publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Należy podkreślić, że dorobek lekarza Remigiusza Kazimierczyka stanowi 10 prac o łącznym IF 19,442 i 195 punktach MNiSW oraz 9 doniesień zjazdowych, natomiast publikacje stanowiące rozprawę doktorską mają łączny impact factor 7,317.

W ramach drobnych uwaga stanowiących raczej przyczynek do dyskusji i dalszych badań nasuwają się następujące pytania:

1) Czy obecnie stosowane w PAH leczenie może wpływać bezpośrednio na cytokiny płytkowe czy też zmiana stężeń cytokin płytkowych jest efektem poprawy stanu pacjentów wynikającej ze stosowanego leczenia?
2) Jakie są różnice dotyczące cytokin płytkowych i funkcji płytek pomiędzy PAH a innymi formami nadciśnienia płucnego w tym związanej z jego najczęstszą przyczyną, czyli lewokomorową niewydolnością serca?
3) Która z cytokin stanowi najlepszy wskaźnik rokowniczy a która potencjalnie najlepszy punkt uchwytu dla przyszłych leków?

Podsumowując, przedstawiona Rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Uważam, że rozprawa doktorska lekarza Remigiusza Kazimierczyka spełnia warunki określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2017 poz. 1789) i wnioskuję o dopuszczenie lekarza Remigiusza Kazimierczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej przez Wysoką Radę.

Dr hab. n. med. Maciej Kostrubiec

dr hab. n. med. Maciej KOSTRUBIEC
specjalista chorób wewnętrznych
KARDIOLOG
1165869

Warszawa, 08 czerwca 2018 r.