



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY  
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Zakład Farmakodynamiki i Patofizjologii

*Dr hab. n. farm. Magdalena Bujalska-Zadrożny*

*Zakład Farmakodynamiki i Patofizjologii*

*Warszawski Uniwersytet Medyczny*

*ul. Banacha 1b*

*02-097, Warszawa*

Warszawa, 25.07.2019

**RECENZJA**

**Rozprawy na stopień doktora nauk farmaceutycznych Pani mgr Klaudii Lustyk zatytułowanej „Mechanizm działania przeciwaritmicznego nowych pochodnych pirolidyn-2-onu i metyloazetydyny” wykonanej w Zakładzie Wstępnych Badań Farmakologicznych Katedry Farmakodynamiki Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Jacka Sapy.**

Arytmia to zaburzenie rytmu serca, w którym dochodzi do nieregularnych skurczy mięśnia sercowego, a ich częstotliwość wychodzi poza zakres 60-100 uderzeń na minutę. Arytmia rzadko jest samodzielną jednostką chorobową. Bardzo często jest stanem współtowarzyszącym różnym patologiom układu krążenia. Istotny jest wiek, płeć pacjenta, inne poważne choroby układu krążenia oraz dodatkowe choroby współtowarzyszące, czy też leki które przyjmuje.

Trzeba sobie zdawać sprawę, że niektóre rodzaje arytmii niosą zagrożenie niebezpiecznymi incydentami, dlatego istotne jest właściwe postępowanie terapeutyczne.

Poglądy na temat leczenia antyarytmicznego uległy istotnym zmianom. Obecnie istnieje tendencja do kompleksowego leczenia pacjenta, ponieważ zazwyczaj taki pacjent cierpi na przewlekłe schorzenie kardiologiczne, np. niewydolność serca, na które nakładają się arytmie.

Dlatego w leczeniu arytmii należy uwzględnić nie tylko samą arytmie, ale współistniejące

stany chorobowe, które mogą ją nasilić, a nawet przyczynić się do jej powstania. Czasem leczenie incydentu arytmii wymaga zaprzestania podawania leków o właściwościach proarytmicznych stosowanych w leczeniu współistniejącej choroby na którą cierpi pacjent. Dodatkowo należy pamiętać, że stosowanie leków antyarytmicznych wiąże się z ryzykiem występowania poważnych działań niepożądanych, dlatego należy je stosować bardzo ostrożnie. Między innymi leki te same mogą posiadać potencjał antyarytmiczny; czyli z jednej strony pomagają zapobiegać jednym rodzajom arytmii, z drugiej prowokują wystąpienie innych.

Ze względu na złożony patomechanizm arytmii, choroby podstawowe prowadzące do zaburzeń rytmu serca lub będące jej konsekwencją, a także brak skutecznych i jednocześnie bezpiecznych leków antyarytmicznych (ich liczba stosowana w praktyce klinicznej jest niewielka) wciąż poszukuje się nowych sposobów terapii.

W ten trend doskonale wpisuje się podjęte przez Doktorantkę zagadnienie dotyczące oceny działania przeciwaritmicznego 12-u nowych związków pochodzących z dwóch grup chemicznych, tj. pochodnych pirolidyn-2-onu i pochodnych metyloazetydyny oraz próba wyjaśnienia mechanizmu ich działania.

Rozprawa doktorska Pani Klaudii Lustyk obejmuje 75 stron maszynopisu proporcjonalnie podzielonych na część teoretyczną i doświadczalną, w której zachowane są tradycyjne elementy opisu gwarantujące łatwy dostęp do pożądaných informacji. Zestaw piśmiennictwa krajowego i zagranicznego liczy łącznie 98 pozycji. Praca jest dobrze opracowana językowo, przejrzysto zilustrowana tabelarycznie i graficznie.

Wstęp Autorka poświęciła zagadnieniu arytmii, krótko opisując budowę i mechanizm związany z aktywnością układu bodźco-przewodzącego serca oraz zaburzenia pracy tego układu będące przyczyną arytmii. Dodatkowo Autorka esencjonalnie opisała rodzaje zaburzeń rytmu serca oraz mechanizm ich powstawania. Szczególnie interesujący w tej części pracy jest rozdział poświęcony farmakoterapii arytmii w oparciu o klasyfikację leków według Vaughana Williamsa; Analizując poszczególne grupy leków antyarytmicznych Doktorantka poddała je krytycznej ocenie.

Opracowanie części teoretycznej rozprawy stanowi logiczny ciąg uzupełniających się informacji z podkreśleniem występujących w nim elementów nowości. Doktorantka wykazała umiejętność krytycznego korzystania z piśmiennictwa naukowego, zdolność selekcji i właściwej segregacji danych w odniesieniu do podjętego tematu, jak również zwięzłości

opisu. Świadczy to o bardzo dobrym teoretycznym przygotowaniu Autorki do rozwiązania podjętego zadania badawczego.

Do badań Doktorantka wykorzystwała szczury szczepu Wistar (samce). Pod względem doboru modeli doświadczalnych i realizacji badań część praktyczna rozprawy nie budzi zastrzeżeń. Doktorantka przeprowadziła szereg doświadczeń, zarówno *in vitro* jak i *in vivo*, w oparciu o bardzo szeroki warsztat, w tym badania radioreceptorowe powinowactwa związków do receptorów  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  i  $\beta_1$ , pomiary ciśnienia krwi mierzone w tętnicy szyjnej w celu oceny wpływu badanych związków na działanie presyjne metoksaminy, badanie EKG oceniające wpływ badanych związków na wybrane parametry serca, tj. częstotliwość, czas trwania odstępów PR, QT oraz zespołu QRS, oznaczenie aktywności przeciwarystmicznej badanych związków w modelu arytmii adrenalinowej wg Szekersa, w modelu arytmii indukowanej chlorkiem wapnia, w modelu arytmii akonitynowej, a także dokonała oceny wpływu na ciśnienie tętnicze krwi u szczurów normotensyjnych. Po wyselekcjonowaniu badanych związków przeprowadzono poszerzone badania oceny ich wpływu na kanały sodowe, potasowe, wapniowe (badania radioreceptorowe), oceny wpływu wybranych związków na EKG izolowanego serca szczura, a także oznaczenie aktywności przeciwarystmicznej w modelu poreperfuzyjnych zaburzeń rytmu izolowanego serca szczura oraz w modelu arytmii adrenalinowej. W metodyce nieco zabrakło przejrzystego opisu jakie dawki badanych substancji były podawane i jaką drogą oraz z jakim referentem i dlaczego były porównywane. Czy do porównania zastosowano równomolarne dawki badanych substancji w porównaniu do referenta? W spisie zastosowanych leków i odczynników (Rozdział 4, podrozdział 4.3, propafenol jest opisany jako tabl. 150 mg. Jak z tabletek była pozyskiwana właściwa substancja odniesienia?

Jakie jest zdanie Doktorantki na temat bardzo ograniczonej roli związków wpływających na receptory  $\alpha$  w standardach leczenia przeciwarystmicznego? Przecież istnieją dane wskazujące, że  $\alpha_1$ -adrenolityki mogą wykazywać właściwości antyarytmiczne. Co skłoniło Doktorantkę, do poszukiwania mechanizmu działania badanych związków w kierunku tej grupy leków?

Imponująca liczba badań oraz różnorodność wykonywanych przez Doktorantkę modeli *in vivo* jak i *in vitro* świadczą o jej dobrym przygotowaniu do dalszej pracy naukowej.

W następnej części pracy Doktorantka dokonała szczegółowej i wnikliwej analizy wyników przeprowadzonych badań. Wyniki zostały poddane analizie statystycznej, a następnie

przedstawione w 17 tabelach i zilustrowano 22 rycinami. Autorka wykazała, że większość badanych związków wykazywało powinowactwo do receptorów adrenergicznych  $\alpha_1$ , natomiast nie wykazywało znaczącego powinowactwa do receptorów  $\alpha_2$ . Dodatkowa ocena działania pochodnych piroolidyn-2-onu i metyloazetydyny na presyjne działanie metoksaminy wykazała, że związki te działają antagonistycznie w stosunku do receptorów  $\alpha_1$ . Z tym mechanizmem wydaje się być związany nieznaczny hipotensyjny efekt wszystkich związków. Jednak wpływ ten był obserwowany po dawkach przekraczających dawki antyarytmiczne. Istotna wydaje się obserwacja braku wpływu badanych związków na wydłużenie odcinka QTc w badaniu EKG, co może wskazywać na brak potencjału proarytmicznego i właściwości indukowania arytmii komorowych. Dziewięć z badanych związków wykazywało profilaktyczną aktywność przeciwoarytmiczną w modelu arytmii adrenaliny, zaś efekt ten dla niektórych z nich (AG-607, AG-608, S-61, S-73 i S-75) był znacznie silniejszy niż dla związku odniesienia (karwedilolu). Co więcej, związki te wykazywały brak istotnego działania  $\beta_1$ -adrenolitycznego. Żadna z badanych cząsteczek nie przywracała rytmu zatokowego oraz nie redukowała śmiertelności w arytmii wywołanej akonityną oraz nie wykazała istotnej aktywności w modelu arytmii indukowanej chlorkiem wapnia.

W kolejnych etapach badań, wyselekcjonowano dwa związki (AG-608 i S-75) o najsilniejszych właściwościach przeciwoarytmicznych. Następnie zbadano ich wpływ na kanały sodowe, potasowe i wapniowe, bowiem antagoniści tych kanałów są stosowani w leczeniu różnego typu arytmii. Jedna z cząsteczek wykazywała wpływ na kanały sodowe, który był 1,8 x silniejszy od dibukainy (związku odniesienia który blokuje kanały sodowe). Doktorantka zaobserwowała także brak wpływu obu związków na kanały potasowe w porównaniu do związku odniesienia - terfenadyny, oraz ich minimalny wpływ na kanały wapniowe typu L w porównaniu do związku odniesienia D600. Warto zwrócić uwagę, że tylko związek AG-608 wykazywał aktywność przeciwoarytmiczną w modelu poreperfuzyjnych zaburzeń rytmu izolowanego serca, zaś oba związki wykazywały istotną statystycznie aktywność w modelu arytmii indukowanej adrenaliną. W tej części pracy zwraca uwagę umiejętność interpretacji przez Doktorantkę uzyskanych wyników.

W pierwszej części dyskusji Doktorantka skupiła się na przeanalizowaniu roli receptorów  $\alpha_1$  w kontekście pracy serca. Zwróciła uwagę na fakt, że u różnych gatunków zwierząt jak i u ludzi istnieją różnice w gęstości i różnej proporcji podtypów tych receptorów co utrudnia interpretację badań eksperymentalnych oraz ich przełożenie na pacjentów.

Przytoczone przykłady z dostępnego piśmiennictwa dodatkowo uzasadniają celowość poszukiwania skutecznie działających, a zarazem bezpiecznych związków oddziałujących na ten typ receptorów. W dalszej części dyskusji Doktorantka dokładnie przeanalizowała całość uzyskanych wyników. W dyskusji nieco zabrakło porównania uzyskanych wyników z danymi dostępnymi w piśmiennictwie, dotyczących np. oceny działania antyarytmicznego związków o podobnym mechanizmie, czy też danych dotyczących potencjalnych działań niepożądanych. Czy Doktorantka posiada informacje na temat działań niepożądanych po podaniu badanych związków. Czy miały one wpływ np. na zachowanie zwierząt?

Rozprawę kończy kilkanaście wniosków. Zostały one przedstawione w precyzyjny sposób i właściwie odzwierciedlają uzyskane wyniki. Doktorantka wskazała, że spośród badanych związków na szczególną uwagę zasługuje związek AG-608. Jego mechanizm działania przeciwaritmicznego wydaje się być związany z właściwościami  $\alpha_1$  adrenolitycznymi i w mniejszym stopniu wpływem na kanały sodowe.

Podsumowując, uzyskane wyniki są na tyle interesujące, że badane związki mogą stanowić strukturę modelową do syntezy innych cząsteczek o potencjale przeciwaritmicznym.

Pracę doktorską Pani Klaudii Lustyk oceniam wysoko. Podkreślam, że podjęta przez Doktorantkę próba oceny aktywności antyarytmicznej nowych związków w świetle małej liczby skutecznych a zarazem bezpiecznych leków antyarytmicznych jest zagadnieniem istotnym. Na uwagę zasługuje duża ilość prawidłowo zaplanowanych i wykonanych przez Doktorantkę badań oraz wysoki stopień ich trudności. Część teoretyczna jak i doświadczalna Rozprawy świadczy o znakomitym przygotowaniu teoretycznym i manualnym Doktorantki, umiejętności organizowania pracy badawczej, a także planowania i rozwiązywania zagadnień naukowych.

Przedstawiając powyższą ocenę kieruję do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie wniosek o dopuszczenie Pani mgr Klaudii Lustyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK  
Zakładu Farmakodynamiki i Patofizjologii  
*Magdalena Bujalska-Zadrożny*  
dr hab. n. farm. Magdalena Bujalska-Zadrożny

Wszystkie  
zapisane w tym miejscu  
zapisane w tym miejscu