Ocena pracy doktorskiej lek med. Piotra Szczepaniaka pt ' Mechanizmy dysfunkcji śródbłonka naczyniowego indukowanej chemioterapią neaoadjuwantową u pacjentek z rakiem gruczołu sutkowego '

Przedstawiona do oceny praca doktorska dotyczy w szerokim pojęciu relacji raka gruczołu sutkowego u kobiet , jak również leczenia tej choroby chemioterapią , do zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego . Szeroko prowadzone badania epidemiologiczne dostarczają również dowodów , że leczenie onkologiczne w przebiegu choroby nowotworowej zwiększa w tej grupie pacjentek ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych

Problem ten nie ogranicza się do leczenia raka gruczołu sutkowego , ale ma przeniesienie na szerokie spektrum leków przeciwnowotworowych stosowanych w terapii wielu chorób onkologicznych . Wywierają one przede wszystkim działanie kardiotoksyczne prowadząc do rozwoju zaburzeń rytmu serca , kardiomiopatii oraz niewydolności serca .

Spośród czynników ryzyka , nadciśnienie tętnicze u pacjenta z chorobą nowotworową stanowi zagadnienie o rosnącym znaczeniu klinicznym , a związek pomiędzy rozwojem nadciśnienia tętniczego a leczeniem onkologicznym powinien być rozpatrywany na dwóch płaszczyznach .

Z jednej strony , u chorych z dotychczas prawidłowym ciśnieniem tętniczym leczonych zwłaszcza inhibitorami szlaku VEGF , pojawienie się nadciśnienia tętniczego obserwowane jest u około 11-45 % pacjentów (zazwyczaj u około 30%), z czego do 20% ma charakter ciężkiego NT .

W najnowszych wytycznych ESC-ESH z 2018 roku podkreśla się , że rozwój nadciśnienia tętniczego w tej grupie chorych może wynikać z presyjnego działania zarówno inhibitorów szlaku VEGF (bewacizumab, sorafenib, sunitynib i pazopanib) oraz inhibitorów proteasomów (karfilzomib). Pierwsza grupa hamuje wytwarzanie tlenku azotu w ścianie naczyniowej , druga zaś zmniejsza odpowiedź naczyniorozszerzającą na acetylocholinę , co powoduje skurcz naczyń .

Jest interesujące , że pojawienie się istotnego czynnika ryzyka - rozwój nadciśnienia tętniczego w toku leczenia inhibitorami szlaku VEGF (zwłaszcza sunitinibem i pazopanibem) -

jest jednocześnie korzystnym czynnikiem rokowniczym u chorych przerzutowym rakiem nerki , świadczącym pośrednio o skuteczności terapii onkologicznej .

Z drugiej strony , inhibitory szlaku VEGF mogą nasilać również stopień ciężkości dotychczas skutecznie leczonego nadciśnienia tętniczego .

W świetle powyższych obserwacji projekt badawczy lek med. Piotra Szczepaniaka , a stanowiący przedmiot pracy doktorskiej , posiada duże znaczenie poznawcze . Ustalając wiodący cel pracy Doktorant wyszedł z założenia , że leczenie raka gruczołu sutkowego wydatnie zwiększyło przeżywalność chorych , manifestując jednak znacząco zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe .

W tym miejscu należy jednak odnotować , że mechanizmy prowadzące do wzrostu ryzyka sercowo-naczyniowego w przebiegu chemioterapii raka gruczołu sutkowego są w małym stopniu poznane .

Również przedmiotem niewielkiej ilości badań są sposoby zapobiegania narastającemu ryzyku sercowo-naczyniowemu w tej grupie chorych - nieliczne jak dotąd badania doświadczalne i kliniczne wskazują na potencjalnie korzystny wpływ leczenia niektórymi inhibitorami konwertazy na funkcję ściany naczyniowej .

Dlatego zatem głównym celem projektu składającego się na pracę doktorską było prześledzenie mechanizmu oddziaływania chemioterapii w schemacie docetaksel-cyklofosfamid - doksorubicyna na funkcję śródbłonka naczyniowego u kobiet poddanych chemioterapii neoadjuwantowej raka gruczołu sutkowego . Ten wiodący cel pracy osiągnięto poprzez sformułowanie i realizację bardziej szczegółowych celów :

- Określenie wpływu chemioterapii neoadjuwantowej (docetaksel , cyklofosfamid , doksorubicyna) na funkcję śródbłonka naczyniowego i określenie efektów wywieranych przez poszczególne preparaty na naczynia ex vivo

- Prześledzenie wpływu chemioterapii neoadjuwantowej (docetaksel , cyklofosfamid , doksorubicyna) na produkcję wolnych rodników tlenowych w obrębie ściany naczynia krwionośnego

- Określenie mechanizmów prowadzących do rozwoju dysfunkcji śródbłonka naczyniowego wywołanego działaniem chemioterapii neoadjuwantowej

Praca napisana jest jasno , pod względem redakcyjnym nie budzi zastrzeżeń , a proporcje pomiędzy poszczególnymi działami są odpowiednio zachowane . Wstęp pracy szeroko przedstawia kilka powiązanych z sobą zagadnień - a zwłaszcza mechanizmy prowadzące do rozwoju dysfunkcji śródbłonka naczyniowego oraz szereg zagadnień związanych z patogenezą , epidemiologią , kliniką i leczeniem raka gruczołu sutkowego . W bardzo interesujący sposób podsumowano oddziaływanie chemioterapii , w tym chemioterapii raka gruczołu sutkowego , na rozwój chorób sercowo-naczyniowych .

Materiał badawczy stanowiły tętnice (będące głównym odgałęzieniem tętnicy piersiowej) wyizolowane podczas zabiegu mastektomii . Naczynia krwionośne pobierane były zarówno od kobiet poddanych zabiegowi operacyjnemu bez uprzedniej chemioterapii neoadjuwantowej [stanowiących grupę kontrolną , łącznie 40 osób] , jak i od pacjentek po uzupełniającej chemioterapii neoadjuwantowej leczonych chirurgicznie [grupa badana składająca się z 30 chorych] .

Do grupy badanej oraz kontrolnej włączono chore w okresie pomenopauzalnym z miejscowo zaawansowanym rakiem piersi , ale bez przerzutów odległych - zwraca uwagę szczegółowa charakterystyka kliniczna przedstawiona przez Doktoranta .

W odrębnej części przedstawiono szczegółowo metodykę badań , między innymi prowadzonych na ludzkich komórkach śródbłonka naczyniowego i komórkach mięśniówki gładkiej , izolowanych naczyniach krwionośnych oraz hodowli naczyń ex vivo . Opisano także model zwierzęcy , który stanowiły zarówno myszy C57BL/6J pozbawione genu dla oksydazy Nox4 , jak i myszy kontrolne .

W dalszej części przedstawiono metodykę służącą do : oceny funkcji naczyń w środowisku łaźni narządowej , badania produkcji anionorodnika ponadtlenkowego oraz produkcji nadtlenku wodoru , badania poziomu ekspresji genów techniką RT-P CR i ekspresji białek techniką Western blotting . W dalszej części Doktorant opisał również metodykę oznaczania poziomu metylacji promotora genu Nox4 , barwienia histologicznego oraz immunofluorescencyjnego .

Wyniki pracy są bardzo nowocześnie przedstawione , poparte są licznymi rycinami . Dyskusja jest konsekwentnie poprowadzona i jest podzielona na trzy części , a następnie zakończona podaniem ograniczeń badania . W odrębnej części umieszczono podsumowanie projektu

poparte interesującym schematem opisującym prawdopodobny mechanizm działania chemioterapii neoadjuwantowej na funkcję naczyń krwionośnych .

Przeprowadzone badania dały możność wysunięcia Doktorantowi następujących wniosków :

- Chemioterapia neoadjuwantowa powoduje upośledzenie funkcji śródbłonka naczyń krwionośnych u kobiet z rakiem gruczołu sutkowego
- Chemioterapia neoadjuwantowa powoduje wzrost poziomu reaktywnych form tlenowych 02 i H202 w naczyniach krwionośnych u pacjentek z rakiem gruczołu sutkowego
- W schemacie chemioterapii neoadjuwantowej docetaksel powoduje upośledznie funkcji śródbłonka naczyniowego
- Chemioterapia neoadjuwantowa indukuje wzrost fosforylacji T495 eNOS obniżającej poziom NO w naczyniach krwionośnych u chorych z rakiem gruczołu sutkowego
- Docetaksel indukuje wzrost fosforylacji T495 eNOS obniżającej poziom NO w komórkach śródbłonka poprzeze szlak zależny od białka ROCK
- Oksydaza NAPDH Nox4 i produkowany przez nią H2O2 odgrywają negatywną rolę w dysfunkcji śródbłonka naczyniowego w mysich aortach pod wpływem docetaksel
- W ludzkich tętnicach poddanych działaniu chemioterapii neoadjuwantowej obserwowany jest również mechanizm kompensacyjny w funkcji rozkurczowej wskutek H2O2

W podsumowaniu należy podkreślić , że tematyka będąca przedmiotem pracy doktorskiej pozwoliła na uzyskanie oryginalnych wyników i co ważne , wskazujące na wzajemne zależności pomiędzy leczeniem onkologicznym raka gruczołu sutkowego a zaburzoną funkcją ściany naczyniowej .

Zakres i tematyka pracy doktorskiej wpisują się w wybitne osiągnięcia Ośrodka i Zespołu kierowanego profesora Tomasza Guzika - należącego do wiodących autorytetów w dziedzinie klinicznych i doświadczalnych badań między innymi nad immunologicznym podłożem nadciśnienia tętniczego i innych chorób układu sercowo-naczyniowego .

Należy zwrócić uwagę na całokształt pracy doktorskiej - jest to w pełni nowoczesne i starannie przygotowane opracowanie , napisane bardzo dobrym językiem i dające jasny wgląd w najważniejsze obserwacje .

Jak już wspomniano , wstęp , opis metodyki , forma przedstawienia wyników i dyskusja są przejrzyście przedstawione i łatwe w odbiorze ; Doktorant wyselekcjonował z uzyskanych wyników najważniejsze obserwacje , które nadają przeprowadzonej pracy znaczenie poznawcze .

Oceniając z pozycji recenzenta pracę doktorską lek med. Piotra Szczepaniaka chciałbym podsumować cztery główne argumenty popierające mój wniosek o wyróżnienie osiągnięć Doktoranta :

- Jednym z najważniejszych moim zdaniem osiągnięć Doktoranta jest postawienie bardzo ciekawej hipotezy badawczej , a następnie konsekwentne dążenie do odpowiedzi na postawione pytania - zwraca uwagę trafny dobór wielu nowoczesnych metod dla osiągnięcia tego celu

- Należy odnotować wykorzystanie znakomitego 'warsztatu' badawczego i doświadczenia grona znakomitych badaczy wymienionych w podziękowaniach Doktoranta . Również w opisie metodyki w części dotyczącej oznaczania poziomu metylacji promotora genu Nox4 wymieniona jest Pracownia Sygnałów Komórkowych i Zaburzeń Metabolicznych Instytutu Biologii Molekularnej im. Marcela Nenckiego PAN w Warszawie , a należących do wiodących Ośrodków w naszym kraju .

- Niewątpliwym osiągnięciem Doktoranta jest prześledzenie mechanizmu wyjaśniającego niekorzystne oddziaływanie chemioterapii neoadjuwantowej na funkcję ściany naczyniowej - dotyczy to zwłaszcza wpływu docetakselu i może mieć ważne znaczenie kliniczne i warto by zatem kontynuować ten wątek pracy badawczej

- Doktorant dla zrealizowania swego pomysłu naukowego wyszedł naprzeciw w aktywnym poszukiwaniu źródeł finansowania swoich badań - trzeba odnotować znaczący wysiłek lek med. Piotra Szczepaniaka w uzyskaniu nie jednego , ale kilku źródeł do rozpoczęcia i kontynuacji projektu - praca doktorska została zainicjowana dzięki projektowi sfinansowanemu w ramach konkursu Nowe Horyzonty w Onkologii a kontynuowanemu dzięki projektowi finansowanemu przez Narodowe Centrum Nauki oraz projektowi ERC Consolidator Grant

Uważam , że praca lek med. Piotra Szczepaniaka stanowi dojrzałe , bardzo ciekawe studium oparte na nowoczesnym 'warsztacie' naukowym i stanowi wkład do wiedzy o związku

pomiędzy leczeniem onkologicznym a zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym . Należy życzyć Doktorantowi szybkiego opublikowania wyników projektu w renomowanym czasopiśmie rodzimym lub zagranicznym .

Praca spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim , w związku z czym mam zaszczyt przedstawić ją Radzie Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum w Krakowie do publicznej obrony rozprawy doktorskiej .

Kierownik
Kliniki Nadciśnienia Tętniczego
Instytutu Kardiologii

Prof. dr hab. med. Andrzej Januszewicz