

Prof. dr hab. Anna Jabłeczka

Zakład Farmakologii Klinicznej Katedry Kardiologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Poznań 26.11. 2015

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pana lek. med. Michała Żorniaka pt.: „Analiza działania kardioprotekcyjnego preparatu WS-1442 w modelach wczesnych arytmii reperfuzyjnych u szczurów”

(promotor: Prof. dr hab. n. med. Tadeusz F. Krzemiński)

- wydana zgodnie z pismem z dnia 02.10. 2015 r. Prof. dr hab. n. med. Macieja Misiołka – Dziekana Wydziału Lekarskiego z oddziałem Lekarsko-dentystycznym w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

Terapeutyczne postępowanie przyczynowe należy do podstawowych działań w leczeniu chorych. Stosowane jest jednak tylko w kilkudziesięciu jednostkach chorobowych o znanej etiologii. Dla większości chorób w tym przewlekłej niewydolności serca (CHF) stanowiącej końcowy etap wielu chorób układu krążenia, leczenie farmakologiczne jest trudną i złożoną sztuką postępowania objawowego.

Współczesne postępowanie farmakologiczne w CHF opiera się przede wszystkim na opublikowanych wynikach badań klinicznych, obejmujących swym zasięgiem tysiące pacjentów o możliwie jednolitym profilu hemodynamicznym i etiologii CHF. Praktyczną konsekwencją kontrolowanych prób klinicznych o dużej sile statystycznej jest ciągle wypracowywanie nowej strategii leczenia. Jak dotąd, mimo znacznych postępów w tym zakresie, wyniki są nadal niezadawalające (wskaźnik przeżyć 5-letnich w zaawansowanej postaci CHF jest gorszy niż w przypadku większości chorób nowotworowych).

Złe rokowanie CHF powoduje, że trwają intensywne badania zmierzające do opracowania bardziej skutecznych strategii postępowania farmakologicznego w tym zespole. W strategii tej ważne miejsce mogą zająć leki roślinne. Dlaczego ? Albowiem najwartościowsze, leki współczesne wywodzą się właśnie z roślin.

A. J.

Głóg w medycynie ludowej jest dobrze znany i stosowany od najdawniejszych czasów. Uważany jest za jedną z najstarszych roślin farmaceutycznych w kulturze zachodniej, mającą swoją monografię w różnych farmakopeach. Surowcem zielarskim jest kwiatostan z 2-5 szczytowymi liśćmi oraz owoc głogu.

W Polsce w obrocie handlowym w sklepach zielarskich i aptekach głóg dostępny jest w różnych postaciach. Kwiatostan i owoc głogu można nabyć w postaci ziół do zaparzania. Liczne preparaty zawierające głóg występują w postaci nalewek, wyciągów, tabletek, a nawet ziołowych cukierków. Na rynku dostępne są również preparaty homeopatyczne na bazie głogu.

W przeszłości głóg podawany był w astmie, w zapaleniu jamy ustnej i gardła, w biegunce, bezsenności, w niewydolności nerek. Tradycyjnie preparaty z liści głogu wykorzystywane były także w celu poprawy funkcji serca, przepływu krwi w naczyniach wieńcowych oraz w przypadku arytmii.

Z istotniejszych przypisywanych mu właściwości wymienia się także wpływ głogu na przebieg CHF. Jednakże nie wszystkie przeprowadzone jak dotąd badania potwierdzają zasadność jego stosowania w zespole klinicznym CHF. Także w odniesieniu do badanego przez Doktoranta standaryzowanego wyciągu z głogu oznaczonego symbolem WS-1442 firmy Dr Willmar Schwabe Pharmaceuticals nie ma jak dotąd dostatecznie wiarygodnych dowodów na jego skuteczność leczniczą pozwalającą na rekomendowanie tego preparatu chorym.

Biorąc pod uwagę narastający problem zdrowotny i ekonomiczny CHF, złośliwość tego procesu, złe rokowanie, a także nie do końca określoną przydatność głogu w farmakoterapii, podjęcie badania przez Doktoranta uznaję za ważne i zasadne.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska liczy 59 stron wydruku komputerowego, który został starannie przygotowany. 42 strony zostały ponumerowane, 17 stron jest nieponumerowanych. Na nieponumerowanych stronach Doktorant umieścił w kolejności: streszczenie w języku polskim (1 strona), streszczenie w języku angielskim (1 strona), 12 rycin (12 stron), 2 tabele (2 strony) oraz podziękowanie za pomoc w realizacji pracy (1 strona).

Praca posiada klasyczny układ typowy dla prac doktorskich o charakterze empirycznym: 1/. Wstęp, 2/. Założenia i cele pracy, 3/. Materiał i metody, 4/. Wyniki, 5/. Omówienie wyników i dyskusja, 6/. Wnioski, piśmiennictwo streszczenia w języku polskim i angielskim, ryciny, tabele.

Praca nie posiada spisu treści.

Dysertacja jest dobrze zaplanowana i prawidłowo przeprowadzona metodycznie. Użyte w tekście skróty zostały wyjaśnione i zebrane w utworzonym „wykazie skrótów”, co ułatwia percepcję zawartych treści. W pracy zawarto także wykaz rycin i tabel.

Ocena merytoryczna

1/. Wstęp.

W zwięzłym wstępie (strony 7-13) Doktorant wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z znaczeniem głogu w medycynie ludowej. Następnie przedstawia dane dotyczące standaryzowanego ekstraktu WS-1442 oraz prezentuje wiele badań eksperymentalnych i klinicznych wskazujących na korzystne działanie kardioprotekcyjne preparatów uzyskiwanych z głogu. Wyniki prezentowanych badań zdaniem Doktoranta świadczą o korzystnym profilu działania preparatów głogu na układ sercowo-naczyniowy co uzasadnia podjęcie przez Niego badania.

Uważam, że wstęp pracy jest napisany poprawnie, zawiera właściwe, merytoryczne treści związane z tematem badania i logicznie motywuje jego celowość.

2/. Założenia i cele pracy.

Celem pracy było określenie optymalnej dawki ekstraktu głogu WS-1442 oraz określenie najkorzystniejszego czasu jego podania na zmniejszenie śmiertelności zwierząt, występowania komorowych zaburzeń rytmu oraz ocena jego wpływu na parametry hemodynamiczne i biochemiczne markery uszkodzenia mięśnia sercowego w modelu wczesnych arytmii reperfuzyjnych u szczurów *in vivo*.

Cel sugeruje że kardioprotekcyjne działanie ekstraktu WS-1442 zostało już udowodnione.

Rozumiejąc zamysł oraz intencję Autora odnośnie celu pracy sugeruję, że „zręczniejszym określeniem” mogłaby być próba odpowiedzi na pytanie: Czy standaryzowany ekstrakt głogu WS-1442 wykazuje kardioprotekcyjne zależne od dawki i czasu podania działanie w modelu wczesnych arytmii reperfuzyjnych u szczurów *in vivo*?

AN

3/. Materiał i metody

Doktorant poddał analizie materiał archiwalny pochodzący z przeprowadzonych wcześniej doświadczeń w których zostały użyte łącznie 152 szczury szczepu Sprague-Dawley. Nie wykonując części doświadczalnej badania, nie podał okresu w jakim zostały przeprowadzone doświadczenia oraz miejsca ich wykonania. Badanie uzyskało pozytywną opinię Lokalnej Komisji Etycznej Śląskiej Akademii Medycznej w 1995 roku (NN-043-49/95).

Metoda i technika operacyjna zostały precyzyjnie opisane w sposób umożliwiający jej powtarzanie, a przyjęty model jest wiarygodnym badaniem, które pozwala ocenić kardioprotekcyjny wpływ ekstraktu WS-1442. Autor przedstawił dokładny protokół doświadczenia. Doświadczenie opiera się na modelu wczesnych arytmii wywołanych niedokrwieniem oraz reperfuzją mięśnia sercowego u szczurów in vivo, które wdrożono i zmodyfikowano w Katedrze i Zakładzie Farmakologii ŚUM w Katowicach w oparciu o metodę opisaną przez Selye et al., Clark et al. oraz Crome et al. Informacja ta wskazuje że badania wykonano w Katedrze i Zakładzie Farmakologii ŚUM, w cieszącym się dużym uznaniem i autorytetem Ośrodku, w którym powstało szereg szczególnie wartościowych prac z zakresu kardiologii eksperymentalnej publikowanych i cytowanych w kraju i za granicą.

Czas trwania każdego doświadczenia wynosił 37 minut, który podzielono na 3 okresy czasowe: 15-minutowy okres stabilizacji, 7-minutowy okres zamknięcia LAD oraz 15-minutowy okres reperfuzji. Skuteczność zamknięcia tętnicy potwierdzano w ekg oraz przez gwałtowny spadek ciśnienia tętniczego. Skuteczność reperfuzji weryfikowano obserwacją zmian ST-T w ekg.

Równoległe podczas całego doświadczenia zapisywano graficzne zmiany ciśnienia tętniczego. Z uzyskanych zapisów ciśnienia i ekg obliczono średnie ciśnienie tętnicze, częstość pracy serca, pośredni wskaźnik zużycia tlenu, wskaźnik śmiertelności, częstość i czas trwania arytmii komorowych podczas reperfuzji.

Z parametrów biochemicznych oznaczono aktywność kinazy kreatynowej oraz stężenie białka w surowicy.

W analizie statystycznej stosowano nieparametryczny test Kruskal-Wallis oraz test chi-kwadrat ($p < 0,05$).

Pragnę podkreślić, że w przypadku korzystania z bazy danych (materiału archiwalnego) dla przeprowadzenia analizy wyników, badacz jest szczególnie zobligowany do szczegółowego wskazania okresu oraz miejsca jego przeprowadzenia.

4/. Wyniki

Wyniki doświadczeń zawarte na 3 stronach oraz 2 tabelach i 10 rycinach przedstawione zostały w sposób przejrzysty.

Doktorant konsekwentnie, w sposób uporządkowany prezentuje wyniki działania ekstraktu WS-1442 w zależności od dawki oraz czasu jego podania. Wskaźnik śmiertelności był mniejszy w każdej z badanych grup w porównaniu z grupą kontrolną i zmniejszał się wraz ze zwiększaniem dawki ekstraktu. Interesująca jest obserwacja, że wraz ze zwiększaniem dawki ekstraktu, wskaźnik śmiertelności dąży do zera. Ponadto, w grupie, w której podano dwukrotnie ekstrakt WS-1442 w dawce 100 mg/kg/ 24h i 100 mg p.o. na godzinę przed doświadczeniem nie odnotowano śmierci wśród badanych szczurów. Podobny zależny od dawki ekstraktu wpływ zaobserwowano w odniesieniu do częstości występowania migotania komór. W grupach w których ekstrakt zastosowano dwukrotnie nie wystąpiło migotanie komór, rzadziej występowało w grupach w których WS-1442 podawano w dawkach 50 mg/kg p.o. oraz 100 mg/kg p.o. We wszystkich grupach badanych odnotowano także skrócenie czasu trwania tachykardii komorowej.

W badaniu biochemicznym stwierdzono obniżenie aktywności kinazy kreatynowej z wyjątkiem grupy, w której ekstrakt był podany w najniższej dawce.

Wyniki dotyczące zależności działania ekstraktu WS-1442 od czasu jego podania wskazują, że ekstrakt skutecznie zmniejszał śmiertelność zwierząt, gdy podany został na 4 godziny przed doświadczeniem. Czas jednak nie wpływa na częstość występowania tachykardii komorowej oraz na zmniejszenie aktywności kinazy kreatynowej.

Nie wykazano wpływu ekstraktu na wielkość ciśnienia tętniczego oraz częstość pracy serca.

Rozdział „wyniki” jest pełną odpowiedzią na postawiony przez Doktoranta cel pracy.

5/. Omówienie wyników i dyskusja

Rozdział ten (liczący 9 stron) bez wątpienia świadczy o dużej wiedzy Doktoranta w zakresie zagadnienia będącego przedmiotem rozprawy. Autor omawia w nim wyniki uzyskane w trakcie badania. Odnosi je i zestawia z licznymi publikacjami. Bardzo ciekawa część dyskusji dotyczy skonfrontowania wyników badania (obniżenie wartości CK) z publikacjami omawiającymi mechanizmy bezpośredniego kardioprotekcyjnego działania WS-1442 oraz omówienie różnic w obserwacjach dotyczących działania hipotensyjnego ekstraktu. Brak wpływu ekstraktu na wielkość ciśnienia w tym badaniu, nie

wyklucza jego hipotensyjnego działania zależnego od przedłużonego podawania na co zwraca uwagę Autor.

Na podstawie analizy wyników Doktorant stwierdza że ekstrakt WS-1442 wykazuje działanie kardioprotekcyjne, które zależy od dawki i czasu podania jego podania.

Należy podkreślić, że jak dotąd nie określono w badaniach eksperymentalnych zarówno najkorzystniejszej dawki jak i najkorzystniejszego przedziału czasowego w odniesieniu do kardioprotekcyjnego działania ekstraktu WS-1442, stąd prezentowana praca jest pierwszym doniesieniem z tego zakresu i stanowi oryginalne osiągnięcie Autora.

Jakość rozdziału jak sądzę poprawiłoby bardziej krytyczne podejście Autora do zagadnienia standaryzacji badanego ekstraktu.

Wprawdzie alkoholowe roztwory wodne, do których należy ekstrakt WS-1442 ze względu na wysoką zawartość oligomerycznych procyjanidyn uważany jest za preparat o potencjalnym działaniu kardioprotekcyjnym, to nie można wykluczyć działania innego komponentu (składnika względnie składników) tego ekstraktu w niewystandaryzowanym (zmiennym) stężeniu. Powodować to może ograniczenie powtarzalności wyników w innych badaniach o ile za działanie kardioprotekcyjne są odpowiedzialne także inne składniki ekstraktu.

Autor nie ustrzegł się błędu interpretacyjnego, opisując wyniki badania SPICE, a powtórzył błędnie za autorami publikacji wyniki procentowe zamiast liczby chorych z CHF, którzy odnieśli rzeczywiste korzyści ze stosowania WS-1442 w tym badaniu.

6/. Wnioski

Wnioski w liczbie dwóch wynikają z uzyskanych wyników, są sformułowane właściwie, poprawnie.

Piśmiennictwo;

Doktorant cytuje w sposób poprawny (zgodnie z kolejnością pojawiania się w tekście) 109 pozycji piśmiennictwa wyłącznie obcojęzycznego w tym jedna publikacja z 2013 roku oraz trzy publikacje z 2012 roku, pozostałe z

wcześniejszych lat. Piśmiennictwo zostało starannie dobrane i odnosi się do omawianych zagadnień.

Streszczenia

Streszczenia - w języku polskim i w języku angielskim – zostały napisane poprawnie na jednej stronie każde. Warto byłoby dodać jeszcze słowa kluczowe.

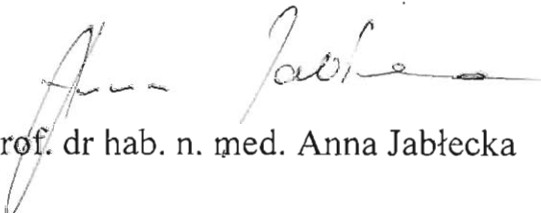
Podsumowanie i wniosek

Badanie działania kardioprotekcyjnego ekstraktu WS-1442 zostało w pełni uzasadnione. Daje nadzieję na pogłębienie wiedzy z zakresu patomechanizmu CHF oraz na ujawnienie potencjału terapeutycznego ekstraktu, który umożliwi jego stosowanie w warunkach klinicznych.

Reasumując lek. med. Michał Żorniak w pełni spełnia kryteria stawiane dysertacji doktorskiej na stopień doktora nauk medycznych. Pan lek. med. Michał Żorniak jest dojrzałym badaczem potrafiącym poprawnie zaplanować i opisać oryginalne badanie własne, ale także krytycznie je skomentować. Całość rozprawy doktorskiej to właściwie wykonana praca naukowa z rzetelnym uzasadnieniem celu badania oraz właściwą interpretacją wyników.

Rozprawa doktorska lek. med. Michała Żorniaka spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Na podstawie dokonanej powyższej, pozytywnej oceny, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrzu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o dopuszczenie lek. med. Michała Żorniaka do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.



Prof. dr hab. n. med. Anna Jabłeczka