

Ocena rozprawy doktorskiej wykonanej i napisanej przez lek. med. Mateusza Kuffnera
zatytułowanej „Obraz morfologiczny jednostki mięśniowo-naczyniowej w przebiegu
wirusowej choroby serca wywołanej przez parwowirusa B19”

Doktorant wykonał badania pod patronatem promotora Pani dr hab. n. med. Małgorzaty Frontczak-Baniewicz w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie.

Podjęcie prac, nad jakością zmian w komórkach mięśniowych mięśnia sercowego wywołanych infekcjami wirusowymi ma swoją „historię”. Prace prowadzone były w różnych instytucjach na świecie, czego dowodem jest także zebrane piśmiennictwo cytowane i wykorzystane dla omówienia wyników w recenzowanej przeze mnie pracy. Piśmiennictwo to jest bardzo bogate, dotyczy czynników wywołujących zmiany chorobowe, w tym szczególnie wirusowe i uwzględnienia charakterystykę wirusów odpowiedzialnych za wywoływanie zmian.

Infekcje wirusowe stanowią w środowisku człowieka dużą grupę chorób. Wielokrotnie choroby wirusowe występują sezonowo i obejmują różne grupy wiekowe ludzi. Z wirusów patogennych dla człowieka można wyliczać wirusy tak z grupy o genomie DNA jak i RNA. Spośród wielu tych grup wirusowych można wyodrębnić kilka, które wywołują zapalenia mięśnia sercowego. Część z tych infekcji to zapalenia ostre, a także podostre i przewlekłe. Wiele z tych zapaleń działa niszcząco na komórki, w których odbywa się replikacja wirusa, a skutkiem takiej replikacji może być śmierć komórki, w której doszło do namnażania patogenu. Jest oczywiste, że infekcje, które dotyczą komórek pomiotoczących ostatecznych prowadzą do ubytku komórek typowych dla narządu, przy czym nie wszystkie narządy, a także nie w każdym wieku posiadają odpowiednio liczną grupę komórek prekursorowych, które mogą stanowić wartościowy składnik niezbędny dla regeneracji struktury i funkcji narządu.

Choroby serca, jako narządu są przedmiotem ocen i badań w wielu przypadkach obniżonej wydolności narządu niezależnie od wieku.

Przeprowadzone i opublikowane badania często prowadziły do określenia przyczyn trwałych uszkodzeń komórek, a także często do ustalenia przyczyny śmierci komórek mięśniowych.

W patologii człowieka infekcje wirusowe towarzyszą naszemu życiu od jego początku; bywają nawet przyczyną zgonów wewnątrzłonowych, dzieci niezimmunizowane w trakcie życia

wewnątrzłonowego w każdym wieku mogą być narażone na infekcje. Wprowadzenie i upowszechnienie szczepień doprowadziły do wyraźnego wydłużenia średniej życia człowieka. W przypadku wielu chorób zakaźnych u ludzi obecnie liczne grupy patogenów objęte są programami szczepień profilaktycznych, co wyraźnie ograniczyło rozprzestrzenianie się zakażeń i śmiertelność populacji ludzkiej.

Znane są grupy patogenów, które nie są objęte programem szczepień obowiązkowych, mimo iż mogą lub są przyczyną istotnych zmian zapalnych, w tym szczególnie narządów, które mają stosunkowo małe, a często zmniejszające się z wiekiem możliwości regeneracji.

Do grup patogenów, które nie obejmują szczepienia obowiązkowego należą wirusy o dużym powinowactwie do mięśnia sercowego i są nimi Parwovirus B19, duża rodzina wirusów Herpes, wirusy Coxsackie i Enterowirusy, Adenowirusy, wirusy Grypy i Paragrypy oraz inne. Część z tych wirusów ma powinowactwo do komórek mięśnia sercowego, a namnażając się w tych komórkach, które są pomiotyczne ostateczne (a liczba komórek prekursorowych, które mogą je zastąpić stale z wiekiem się zmniejsza) mogą prowadzić do postępującej niewydolności narządu.

Podjęcie badań w zakresie przyczyn zapalenia mięśnia sercowego jest prawdziwym wyzwaniem dla zespołu badawczego, głównie, dlatego, że mięsień sercowy jest „trudnym” obiektem badań morfologicznych, mikrobiologicznych, biochemicznych.

Potrzebne są wyjątkowe możliwości badawcze, aby realizować ocenę przyczyn powodujących niewydolność mięśnia sercowego.

Autor ocenianej przeze mnie pracy zaplanował i zrealizował badania dotyczące przyczyn niewydolności układu krążenia u ludzi, którzy mieli rozpoznaną klinicznie niewydolność mięśnia sercowego, a nie mieli określonej przyczyny choroby. Dobierając chorych do opracowania odpowiedzi założył sobie bardzo wysokie wymagania dotyczące przyczyn niewydolności krążenia i specjalny nacisk położył na zapalenia mięśnia sercowego, które mogą mieć przebieg piorunujący, ostry i przewlekły, w wyniku, których chorzy mogą przez całe życie ponosić konsekwencje w postaci kardiomiopatii rozstrzeniowej.

We wstępie pracy autor opisał główne grupy wirusów, które w pracach innych autorów zostały przedstawione, jako przyczyna zapaleń mięśnia sercowego. Wymienił a także scharakteryzował grupy wirusów, które mają powinowactwo do komórek mięśnia serca lub śródbłonna naczyń krwionośnych. U badanych chorych wyodrębnił też grupy wirusów, które pośrednio lub poprzez mimikrę molekularną wywołują zwiększone wytwarzanie cytokin lub/oraz komórek, które mogą odpowiadać za uszkodzenia komórek mięśniowych serca.

Autor wymienił wszystkie grupy wirusów, które mogą wywoływać uszkodzenia kardiomiocytów, podkreślając, specjalnie koinfekcję dwoma typami wirusa, do których należą wirus B19V, HHV6 i EBV.

Ponadto we wstępie przedstawił szczegółową charakterystykę jednoniciowego bezosłonkowego wirusa DNA, który należy do grupy Parwovirusów, a jest nim podtyp B19. Została przedstawiona dokładna charakterystyka tego wirusa wraz ze skutecznością infekcji, mimikrą reakcji cytoimmunologicznej, co prowadzi do patologicznej przebudowy mięśnia sercowego. Autor podkreślił także, iż koinfekcja B19V z innymi wirusami kardiotropowymi jest stosunkowo częsta i pogarsza przebieg choroby. Ma to oczywisty wpływ na powstawanie niewydolności serca.

W kolejnych częściach opracowania przedstawił chorych, którzy cierpią z powodu niewydolności serca, a także przytoczył prawidłowo piśmiennictwo dotyczące oceny klinicznej i morfologicznej serca w jego niewydolności. Odniósł te informacje do precyzyjnie zebranego piśmiennictwa przedmiotu, które pozwoliło przedstawić podział chorych ze względu na płeć, wiek i konkretne rozpoznanie kliniczne.

Cytował przy okazji piśmiennictwo, które podkreśliło rolę zwiększenia skórnego lub objętościowego obciążenia mięśnia sercowego, co prowadziło do patologicznej przebudowy serca, która występuje niezależnie od przyczyny niewydolności. Podkreślał także rolę kardiomiopatii rozstrzeniowej, która jest najbardziej rozpowszechnioną wśród wszystkich miopatii i jest najczęstszą przyczyną niewydolności serca u ludzi młodych.

Opisując kardiomiopatie rozstrzeniowe autor uwzględnił ich przyczyny oraz patomechanizm przebudowy mięśnia sercowego.

Doktorant podkreślił w tym rozdziale układ „błędnego koła” związany z przebudową mięśnia sercowego, uszkodzeniem błon komórkowych prowadzącym do śmierci komórek w różnych okresach postępu uszkodzeń mięśnia sercowego, co prowadzić może do zwiększenia wydzielania katecholamin i zmiany (zmniejszenia) wpływu nerwu błędnego. Zwrócił uwagę na rolę zmian występujących w przestrzeni międzykomórkowej i zmiany składu elementów komórkowych i białkowych, które jako kardiomiopatia pozapalna prowadziły do dysfunkcji lewej komory, niewydolności serca lub asymetrii. Cytował także badania dotyczące wpływu zmian toczących się w przestrzeni pozakomórkowej na progresję zmian wewnątrzkomórkowych w kardiomiocytach.

Całość opracowania wstępu zawiera także informacje dotyczące przyczyn zapaleń mięśnia sercowego i ta część wstępu, podobnie jak i poprzednie jest bardzo wnikliwie opisana z szerokim uwzględnieniem należnego piśmiennictwa. Ta część tekstu pracy szczegółowo,

konsekwentnie przedstawia obraz morfologiczny zmian toczących się w trakcie postępu procesu zapalnego wiodącego do zaburzenia relacji międzykomórkowych (ze zwróceniem szczególnej uwagi na wpływ komórek pochodzenia szpikowego, węzłowego, a także rozplem sieci naczyń włosowatych, oraz przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej, które biorą udział w opisanych procesach).

W kolejnym rozdziale autor przedstawia kliniczne techniki diagnozowania zmian w trakcie rozwoju zapaleń mięśnia sercowego. Dokładnie wymienia badania kliniczne i molekularne pomocne w diagnozowaniu przyczyn przebudowy mięśnia sercowego.

Podkreśla tym samym rolę zdiagnozowania przyczyn niewydolności serca, zaburzeń rytmu, zmian w składzie osocza i komórek krwi dla rozumienia patomechanizmu niewydolności serca, jako pompy.

Kolejny podrozdział wstępu to informacje o leczeniu zapaleń mięśnia sercowego, z podkreśleniem różnic w skuteczności terapii zależnie od długości trwania choroby i stopnia jej zaawansowania (uwzględnia nawet rolę ECMO jako pomostu do chirurgicznej terapii, w tym przeszczepu serca).

„Dyskusja” pracy uwzględnia wszystkie zmiany opisane w wynikach, a także ich rolę w zrozumieniu genezy zaburzeń rytmu i jej wpływu na funkcjonowanie serca.

Wnioski pracy zawierają najważniejsze i doskonale udokumentowane zmiany morfologiczne badanego materiału w odniesieniu do funkcji i czynności mięśnia sercowego. Pozwala to na przyczynowo - skutkowe rozumienie roli zapaleń wirusowych mięśnia sercowego, jako głównego powodu niewydolności krążenia.

Moim zdaniem praca zasługuje na wyróżnienie ze względu na wyjątkowo dokładne i bardzo wiarygodne pod kątem oceny morfologicznej określenie powodów powstania niewydolności mięśnia sercowego pod wpływem infekcji wirusowej.

Sądzę, iż wykładniki replikacji wirusów B19 jak i innych wirusów, które mogą namnażać się w kardiomiocytach prowadzi do ich uszkodzeń, zmian w przestrzeniach pozakomórkowych mięśnia sercowego i skutecznie wpływa na przebudowę mięśnia i zmiany jego funkcji.

Prezentując materiał badaniowy zastosował kryteria ogólnej oceny klinicznej (rutynowe badania kliniczne, radiologiczne), oraz markery niewydolności mięśnia sercowego według przyjętych dla tej oceny metod.

Liczba chorych poddanych badaniom jest duża i w pełni wystarczająca, aby zastosować podział badanego materiału na grupy badaniowe, które także można między sobą porównywać.

Dodać także należy, iż w oparciu o zebrany materiał można było sprawdzić wykładniki zależności pracy serca od liczby kopii wirusów w materiałach zabezpieczonych do badań morfologicznych.

Jakość oceny klinicznej, biochemicznej, a także zastosowane dla charakterystyki morfologicznej zmian w sercu techniki należą do bardzo dokładnych, a na szczególne podkreślenie zasługuje użycie oceny ultrastruktur zmian w materiałach biopsji endomiokardialnych.

Cały zebrany materiał został podzielony na grupy badaniowe według obowiązujących kryteriów NYHA.

Równolegle do podziału klinicznego zastosowane zostały metody używane w wirusologii i morfologii na poziomie oceny mikroskopowo – elektronowej preparatów mięśnia sercowego pobranego na drodze biopsji endomiokardialnej.

Wyniki badań umieszczone zostały, jako opisy tekstowe grup chorych i zebrane w tabelach charakteryzujących badaną populację pod kątem występowania cechy (częstość występowania materiału genetycznego wirusów ; tabela wraz z ryciną zbiorową), występowania koinfekcji, parametrów antropometrycznych, objawów klinicznych, badań laboratoryjnych składu krwinek i osocza, echokardiograficzne, histopatologiczne, korelacji wydolności lewej komory ze stanem innych badań laboratoryjnych wirusa B19V.

Wyniki badań morfologicznych to szczegółowe opisy zmian w kardiomiocytach, komórkach zrębu, naczyniach włosowatych, komórkach nacieku zapalnego i elementów fibrylarnych, w tym włókien kolagenowych.

Wyniki badań to także bardzo przekonująca mikroskopia elektronowa. Załączona dokumentacja w postaci licznych perfekcyjnie oczywistych (pięknych) obrazów mikroskopowych dotyczy obecności cząsteczek wirusowych w jądrach komórkowych, czemu towarzyszą zmiany kształtu jąder (pofałdowania otoczek jądrowych), wykładników ich aktywności (relacje heterochromatyny i euchromatyny), jąder, porów jądrowych (kwasy nukleinowe w obszarach porów jądrowych, w tym szczególnie w cytoplazmie w najbliższym sąsiedztwie porów, a także budowy ultrastruktur cytoplazmy zakażonych komórek (siateczka śródplazmatyczna szorstka, rybosomy, mitochondria, zmiany liczby długości i ułożenia grzebieni mitochondrialnych, ziarnistości Pallady'ego (mitochondrialne kwasy nukleinowe) a co za tym idzie ich kształtu i relacji do kanałów szorstkich endoplazmatycznego retikulum,

aparat kurczliwy kardiomiocytów). Zwrócono uwagę, na jakość zmian komórek zrębu (fibroblasty/fibrocyty), elementów włóknkowych zrębu, zmiany proporcji elementów cytoplazmy kardiomiocytów ze szczególnym uwzględnieniem wykładników replikacji wirusów w stosunku do stałych ilościowych i jakościowych cech kardiomiocytów w odniesieniu do komórek zainfekowanych (dotyczyło to także elementów kurczliwych kardiomiocytów.)

Na szczególne podkreślenie zasługują dowody ultrastrukturalne na „rozejście” kardiomiocytów widoczne poprzez brak wstawek między komórkami, co niewątpliwie ma wpływ na brak możliwości stymulacji kardiomiocytów i niewątpliwie powstawanie zaburzeń funkcji skurczowej serca.

Dyskusja pracy w pełni uwzględnia piśmiennictwo przedmiotu (zamieszczono jako dodatkowa lista tytułów prac i miejsce ich publikacji).

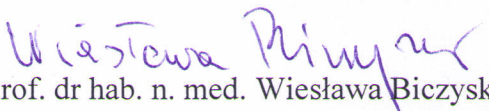
Autor rozprawy w pełni wykorzystuje cytowane piśmiennictwo dla wyjaśnienia patomechanizmów „zapalenia”, których skutkiem jest przebudowa struktury mięśnia sercowego tak w stosunku do kardiomiocytów jak i komórek odczynu zapalnego, komórek zrębu i ich produktów w przestrzeniach pozakomórkowych, a także naczyń włosowatych.

Merytorycznie bardzo dobra, technicznie piękna dokumentacja umieszczona w pracy opisana i omówiona stanowi rzetelną podstawę do sformułowania wniosków.

Wnioski zawierają wszystkie wartościowe wyniki przeprowadzonych badań i zobrazowane, jak już wcześniej napisałam, doskonałą dokumentacją.

Recenzowana przeze mnie praca wnosi istotny postęp do wiedzy o przyczynach, patomechanizmach i skutkach wirusowych zapaleń mięśnia serca w tym ze szczególnym uwzględnieniem wirusa B19V.

Wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie dr Mateusza Kuffnera do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Prof. dr hab. n. med. Wiesława Biczysko
Katedra Patomorfologii Klinicznej
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu