

Warszawa, 18.02.2025

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**pt. „Parametry stresu oksydacyjnego, stresu nitrozacyjnego oraz stresu
siateczki śródplazmatycznej w przewlekłej niewydolności serca
z zachowaną oraz obniżoną frakcją wyrzutową”
w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych**

Autor: Lek. Karol Momot

**z Katedry i Zakładu Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**

Promotor: Prof. dr. hab. n. med. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska

Promotor pomocniczy: Dr n. med. Małgorzata Wojciechowska

Niewydolność serca stanowi istotny problem kliniczny. Szacuje się, że tylko w Polsce dotyczy ponad miliona osób. Poszukiwanie nowych parametrów umożliwiających zrozumienie patofizjologii rozwoju niewydolności serca, markerów diagnostycznych oraz punktów uchwytu nowych potencjalnych terapii jest bezspornie jednym z kluczowych zadań współczesnej medycyny. Dlatego podjęte przez Doktoranta zagadnienia mające na celu analizę roli procesów takich jak stres oksydacyjny, stres nitrozacyjny, czy stres siateczki śródplazmatycznej w przebiegu niewydolności serca uważam za ważne i aktualne.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest oparta na cyklu 3 prac oryginalnych opublikowanych w latach 2023-2024 w recenzowanych, międzynarodowych czasopismach. Łączna punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego cyklu prac wynosi 340 punktów, a sumaryczna wartość wskaźnika Impact Factor wynosi 10,3 punktów. W każdej z opublikowanych prac oryginalnych Doktorant postawił oddzielne cele, co tworzy łącznie spójną i przemyślaną całość. Należy podkreślić, że w każdej z tych prac Doktorant jest pierwszym autorem i odgrywał (zgodnie z oświadczeniami współautorów) wiodącą rolę w

powstaniu tych publikacji (wkład procentowy wynosił od 50% do 60%). Rola Doktoranta w powstaniu publikacji polegała m.in. na stworzeniu projektu, opracowaniu tekstu artykułu, analizie statystycznej oraz – co zasługuje na szczególną pochwałę – na uzyskaniu finansowania dla prowadzonych badań. Zdolność do pozyskania funduszy już na początkowym etapie kariery naukowej świadczy o wysokim zaangażowaniu, zaradności i pomysłowości Doktoranta. Badania stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej zostały zrealizowane w ramach projektów naukowych:

1. „Odkrycie nowych potencjalnych kierunków terapeutycznych w leczeniu niewydolności serca” (SKN/SP/534125/2022)
2. „iNOS expression and IRE1alpha-XBP1 pathway activity in Sprague Dawley rats with Post-Myocardial Infarction Heart Failure and/or after High-Fat Diet” (41/M/MG/N/21)
3. „The levels of myeloperoxidase and 3-nitrotyrosine in post-myocardial infarction heart failure and high-fat diet in the Sprague Dawley rat model” (49/M/MG/N/23)

Tekst rozprawy został opatrzony załącznikami, w skład których wchodzi opinie właściwych komisji bioetycznych oraz oświadczenia współautorów publikacji. Streszczenia w języku polskim i angielskim prawidłowo podsumowują najważniejsze wyniki badań i wnioski całej rozprawy. Cykl publikacji został opatrzony wstępem. Po przedstawianiu cyklu publikacji Doktorant podsumowuje go w rozdziale „Dyskusja i podsumowanie”.

Rozprawa została przygotowana w sposób staranny i przejrzysty, co umożliwiło bardzo dobre przedstawienie zagadnienia będącego podstawą rozprawy oraz danych zebranych przez Doktoranta, a czytelnikowi nie sprawia trudności zapoznanie się z rozprawą.

Tytuł pracy właściwie odzwierciedla treść rozprawy. W zwięzłym wstępie Doktorant przybliży czytelnikowi zagadnienia związane epidemiologią, charakterystyką, podziałem oraz patofizjologią rozwoju niewydolności serca. W tym fragmencie rozprawy Doktorant wykazał się rzadko spotykaną umiejętnością przedstawienia złożonych zagadnień w sposób przystępny i skondensowany, wyczerpując na kilku stronach najważniejsze przesłanki do powstania rozprawy. Doktorant, przedstawiając podział niewydolności serca na niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową (HFpEF), z łagodnie upośledzoną frakcją wyrzutową (HFmrEF) oraz zmniejszoną frakcją wyrzutową (HFrEF), słusznie dokonuje wyboru, jako grup badanych, pacjentów z HFpEF i HFrEF pomijając pacjentów z HFmrEF.

Dzięki temu Doktorant starał się jak najbardziej rozgraniczyć badane grupy oraz starał się uniknąć nakładania się cech poszczególnych typów niewydolności serca.

Cele i założenia pracy zostały sformułowane jednoznacznie tworząc spójną i logiczną całość. Dwie pierwsze prace miały na celu nasilenia stresu nitrozacyjnego [ocenianego na podstawie stężenia 3-nitrotyrozyny (3-NT) oraz indykowanej syntetazy tlenu azotu (iNOS)], stresu siateczki śródplazmatycznej (jako marker został użyty poziom białka regulowanego przez glukozę 78 – GRP78), nasilenia stanu zapalnego oraz stresu oksydacyjnego [mierzonego za pomocą poziomu mieloperoksydazy (MPO) w osoczu pacjentów z HFpEF i HFrEF]. Celem trzeciej pracy było zbadanie wpływu zawału mięśnia sercowego oraz zastosowania diety wysokotłuszczowej na stres nitrozacyjny (oceniany na podstawie poziomu 3-NT oraz iNOS), stan zapalny wraz ze stresem oksydacyjnym (MPO), stres siateczki śródplazmatycznej (GRP78) oraz na aktywność szlaków odpowiedzi na niesfaldowane białka (UPR), które są odpowiedzią na ten stres [enzym 1 α wymagający inozytolu (IRE1 α), aktywujący czynnik transkrypcyjny 6 (ATF6), kinaza białkowa aktywowana przez stres siateczki śródplazmatycznej (PERK)] w mięśniu lewej komory serca szczurów Sprague Dawley.

Pierwsza z prac (Momot K. i wsp. Evaluation of Nitrosative/Oxidative Stress and Inflammation in Heart Failure with Preserved and Reduced Ejection Fraction, International Journal of Molecular Sciences, 2023) obejmowała grupę 27 pacjentów z HFpEF, 22 pacjentów z HFrEF oraz 41 osób stanowiących grupę kontrolną (pacjenci bez niewydolności serca). Doktorant wykazał, że pacjenci z HFpEF charakteryzowali się wyższym osoczym stężeniem 3-NT, co sugeruje większe nasilenie stresu nitrozacyjnego w tej grupie pacjentów w porównaniu do grupy z HFrEF i grupy kontrolnej. Stwierdził ponadto, że stężenie MPO w osoczu, związane z zapaleniem i stresem oksydacyjnym było porównywalne we wszystkich badanych grupach.

W drugiej z prac (Momot K. i wsp. Endoplasmic Reticulum Stress and Expression of Nitric Oxide Synthases in Heart Failure with Preserved and with Reduced Ejection Fraction – Pilot Study, Cardiology Journal, 2024) obejmującej 42 pacjentów z HFpEF i 38 pacjentów z HFrEF, Doktorant stwierdził niższe stężenia GRP78 i wyższe stężenia iNOS w osoczu pacjentów z HFpEF w porównaniu do pacjentów z HFrEF. W związku z tym zasugerował, że

stres siateczki śródplazmatycznej jest bardziej nasilony w HFrEF, podczas gdy nadmierna ekspresja iNOS (która jest bezpośrednio powiązana ze stresem nitrozacyjnym) odgrywa większą rolę w patogenezie HFpEF.

Ostatnia praca będąca częścią cyklu artykułów (Momot K i wsp. Post-myocardial infarction heart failure and long-term high-fat diet cardiac endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in Sprague Dawley rat model, PLOS ONE, 2024) przeprowadzona została na modelu zwierzęcym (30 dorosłych samców szczurów Sprague Dawley). Doktorant wykazał w niej, że zarówno zastosowanie diety wysokotłuszczowej, jak i wywołanie zawału mięśnia sercowego mają istotny wpływ na podwyższenie poziomu 3-NT oraz MPO w mięśniu lewej komory serca. Poziom iNOS w mięśniu lewej komory był również najwyższy w grupie, u której podano dietę wysokotłuszczową i wywołano zawał serca. Dodatkowo, Doktorant wykazał, że stres siateczki śródplazmatycznej jest bardziej nasilony po zastosowaniu wysokotłuszczowej niż po wystąpieniu zawału mięśnia sercowego. Aktywność jednego ze szlaków UPR – szlaku IRE1 α – była najniższa u szczurów, u których jednocześnie zastosowano wysokotłuszczową i wyindukowano zawał serca.

Uzyskane wyniki pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Stres nitrozacyjny i stres siateczki śródplazmatycznej różnicują HFpEF i HFrEF

Różne mechanizmy patofizjologiczne dominują w poszczególnych typach HF. W HFpEF wydaje się przeważać stres nitrozacyjny, oznaczony za pomocą stężenia 3-NT oraz iNOS w osoczu. Z kolei w HFrEF wydaje się dominować stres siateczki śródplazmatycznej, którego osoczymym markerem w pracy doktorskiej był GRP78.

2. Dieta wysokotłuszczowa i pozawałowa niewydolność serca

Jednoczasowa podaż diety wysokotłuszczowej wraz z wywołaniem zawału serca wydaje się nasilać stres siateczki śródplazmatycznej, co zostało ocenione poprzez wzrost poziomu GRP78 w mięśniu sercowym. Dodatkowo w tej grupie zwierząt zaobserwowano również nasilenie stresu nitrozacyjnego, mierzonego za pomocą poziomów iNOS i 3-NT, a

także wzrost stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego, ocenianego na podstawie poziomu MPO.

3. Interwencje dietetyczne w pozawałowej niewydolności serca

Wyniki badania przedklinicznego sugerują, że interwencje dietetyczne, polegające na zmniejszeniu zawartości tłuszczów nasyconych, mogą odgrywać istotną rolę w prewencji progresji pozawałowej niewydolności serca, poprzez redukcję stresu oksydacyjnego i nitrozacyjnego, stresu siateczki śródplazmatycznej oraz stanu zapalnego w mięśniu sercowym.

Ten ostatni wniosek uważam za szczególnie ciekawą, ważną i praktyczną obserwację. Stwierdzenie, że interwencja dietetyczna w postaci zmniejszenia zawartości tłuszczów nasyconych może pełnić rolę prewencyjną w progresji pozawałowej niewydolności serca może mieć istotne znaczenie kliniczne.

Cykl publikacji Doktorant podsumowuje ciekawą dyskusją, w której wskazuje również na potencjalne praktyczne zastosowania uzyskanych wyników, jak choćby wskazanie, że zahamowanie nadmiernej aktywności iNOS ma potencjał, by stać się obiecującym celem terapeutycznym w leczeniu niewydolności serca.

Bibliografia stanowi rozszerzenie piśmiennictwa cytowanego w poszczególnych publikacjach składających się na cykl prac. Bibliografia obejmuje 48 starannie wyselekcjonowanych prac, z których większość opublikowano w ostatnim czasie. Wymienione są również prace polskie opublikowane w recenzowanych czasopismach, w tym prace, w których Senior Autorem jest Promotorka doktoratu – Prof. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska.

Z obowiązku recenzenta pozwolę sobie wskazać kilka uwag i komentarzy, które nasunęły mi się podczas lektury rozprawy:

1. Zgodnie z charakterystyką populacji pacjentów z HFpEF przedstawioną w wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego, grupa ta jest często starsza niż HFrEF, częściej dotyczy kobiet, częściej występuje w niej migotanie przedsionków, przewlekła choroba nerek oraz niesercowo-naczyniowe choroby współistniejące. Charakterystyka

podstawowa grup w pierwszej publikacji (International Journal of Molecular Sciences) odbiega nieco od tego stereotypu. Proszę o komentarz.

2. Biorąc pod uwagę okres, w którym przeprowadzono badania i datę zgłoszenia artykułu do recenzji (15.09.2023) nie dziwi fakt niewielkiego odsetka pacjentów z HFpEF przyjmujących inhibitory SGLT2 (aktualizacja zaleceń dotyczących postępowania w niewydolności serca jednoznacznie wskazująca na konieczność stosowania tej grupy leków w HFpEF miała miejsce 25.08.2023). Czy Doktorant uważa, że większy odsetek pacjentów z HFpEF przyjmujących flozyny mógłby mieć wpływ na wyniki przeprowadzonych przez Doktoranta badań?
3. Dość spory odsetek pacjentów w grupie HFpEF (11%) i HFrEF (27%) miał ciężką wadę zastawkową. Dlaczego Doktorant nie zdecydował się na wyłączenie tych pacjentów z analizy?
4. Proszę o doprecyzowanie pojęcia „cardiomyopathy” używanego w pierwszej i drugiej (Cardiology Journal) publikacji. O które kardiomiopatie chodzi?
5. Brakuje informacji na jakiej podstawie wybierani byli pacjenci do grupy kontrolnej w pierwszej i drugiej publikacji.
6. Dlaczego liczebności grup w pierwszej i drugiej publikacji różnią się od siebie?
7. Co Doktorant miał na myśli pisząc w Tabeli 1 w drugiej publikacji o „history of chronic kidney disease”, a co pisząc o „renal dysfunction”?
8. Na uwagę zwraca dość wysoki (33%) odsetek pacjentów z implantowanym kardiowerterem-defibrylatorem w grupie pacjentów z HFpEF w drugiej publikacji. Proszę o komentarz.

Podsumowując, pracę lekarza Karola Momota oceniam wysoko. Doktorant podjął się aktualnego i ważnego klinicznie oraz naukowo tematu. Wymienione powyżej uwagi nie umniejszają mojej wysokiej oceny, a komentarze mają na celu zaspokojenie mojej naukowej ciekawości. Uwagi traktuję raczej jako sugestie dla Doktoranta przy planowaniu dalszych badań niż jako krytykę przedstawionej pracy. Praca zawiera kilka niezwykle ciekawych wyników mogących mieć bezpośrednie przełożenie na codzienną praktykę kliniczną. Lekarz Karol Momot posiada umiejętność prowadzenia badań naukowych.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018, poz. 1668)”. Mam zaszczyt i

przyjemność zwrócić się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z prośbą o dopuszczenie lekarza Karola Momota do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto uwzględniając wysoką wartość merytoryczną oraz nowatorski charakter publikacji ujętych w cyklu wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej. Zebrany cykl prac wyróżnia się oryginalnością podjętych badań, ma wysoki poziom merytoryczny i wnosi wiele nowych informacji poszerzających naszą wiedzę na temat patogenezы i potencjalnych możliwości terapeutycznych niewydolności serca. Postęp w zakresie wiedzy klinicznej dotyczący niewydolności serca musi być uzupełniony badaniami z zakresu nauk podstawowych, a cykl publikacji stanowiący podstawę rozprawy doktorskiej doskonale wpisuje się w tą potrzebę. O wartości rozprawy doktorskiej lekarza Karola Momota świadczy wysoki łączny wskaźnik oddziaływania Impact Factor (10,3), jak również suma punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego MNiSW (340), które przewyższają wymogi dla prac doktorskich.

Prof. dr hab. n. med. Mateusz Śpiewak
Narodowy Instytut Kardiologii
W Warszawie