

Białystok 25.08.2026

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lek. Joanny Jarosz-Popek p.t.:

„Integracja sieci niekodujących RNA powiązanych z SGLT2 oraz krążącymi mikroRNA jako biomarkerów w zawale mięśnia sercowego i cukrzycy typu 2.”

Promotor: prof. dr hab. n. med. Marek Postuła

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med Ceren Eyiletten Postuła

Zaburzenia kardiometaboliczne stają się na największym problemem zdrowotnym XXI wieku. Lawinowo narastająca częstość otyłości, w szczególności najbardziej niekorzystnej metabolicznie otyłości brzusznej, pociąga za sobą stały wzrost występowania cukrzycy i stanów przedcukrzycowych. Przy czym należy podkreślić, że to co określamy dość łagodnym mianem „stanu przedcukrzycowego” zazwyczaj jest złożoną i zaawansowaną konstelacją zmian metabolicznych znacząco wpływających na rozwój patologii układu krążenia. Należy zwrócić uwagę, iż problem dotyczy różnych stadiów większości schorzeń kardiologicznych. Od rozwoju zmian naczyniowych przedmiazdżycowych, przez narastanie i niestabilność blaszki miażdżycowej, a co za tym idzie prawdopodobieństwo wystąpienia ostrego zespołu wieńcowego, do częstości jego powikłań, w tym rozwoju niewydolności serca. W ostatniej dekadzie do najważniejszych leków stosowanych wśród pacjentów z cukrzycą lub niewydolnością serca należą inhibitory kotransportera sodowo-glukozowego typu drugiego (SGLT2i). Skuteczność tych leków wręcz zaskoczyła badaczy i klinicystów sugerując dużo większe efekty niż oczekiwane z oddziaływania na receptor znajdujący się w cewce bliższej nefronu. Z tego względu uważam temat podjęty przez doktorantkę, pod opieką promotora, za doskonały przykład badań podstawowych wynikających z ważnej potrzeby klinicznej i obserwacji danych epidemiologicznych. Wyniki tej pracy będą mogły wpłynąć w przyszłości na codzienną praktykę kliniczną.

Przedstawiona praca ma klasyczny układ monografii doktorskiej. Jest napisana na 182 stronach maszynopisu, zawiera 12 rycin, 8 tabel oraz 168 pozycji piśmiennictwa. Dołączone są również zgoda Komisji Etycznej Uniwersytetu Medycznego w Graz oraz jej tłumaczenie przysięgłe na język polski. Praca obejmuje następujące rozdziały: spisy treści, rycin, tabel i skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, zakończenie zawierające podsumowanie i wnioski, aneks podsumowujący część wyników w formie tabelarycznej, piśmiennictwo.

Zwraca uwagę bardzo wysoki poziom edytorski przygotowania pracy. Starannie przygotowane ryciny, tabele poprawiają zrozumienie skomplikowanych procesów opisywanych w monografii, język jest zrozumiały a kalki językowe pojawiają się tylko w wyjątkowych sytuacjach.

Wstęp zawiera kompleksowe wprowadzenie do tematu badań. Rozpoczyna się od krótkiego przedstawienia patogenezы zawału serca oraz procesu przebudowy lewej komory po zawale. Następnie wykazuje kluczowy wpływ cukrzycy na rokowanie oraz w szczególności na przebudowę lewej komory po zawale. Ważnym elementem jest prezentacja efektów SGLT2i – w tym używanej w badaniu empagliflozyny, w hamowaniu niekorzystnych procesów rozwoju niewydolności serca. Druga część wstępu szczegółowo opisuje wpływ krótkich niekodujących RNA (w tym microRNA) na regulację funkcji serca oraz ich potencjalne znaczenie jako markerów niekorzystnego rokowania. Całość doskonale ukazuje kontekst projektu i jego znaczenie dla nauki i praktyki klinicznej, a równocześnie udowadnia wysoką biegłość Doktorantki w poruszaniu się wśród tych zagadnień. Należy zwrócić uwagę na doskonale przygotowane ryciny, które ułatwiają zrozumienie skomplikowanych procesów odbywających się na poziomie komórkowym. Wstęp kończy przedstawienie luk w obecnej wiedzy na temat roli miRNA u pacjentów po zawale i z cukrzycą. To pozwala lepiej zrozumieć znaczenie przeprowadzonego badania oraz bezpośrednio wprowadza czytelnika w cele pracy. Taka bardzo logiczna struktura wstępu prowadzi czytelnika od problemu klinicznego, przez wyjaśnione skomplikowane mechanizmy patofizjologiczne do zdefiniowania możliwości zaadresowania potrzeb klinicznych.

Autorka w kolejnym rozdziale podaje, iż celem pracy było: „ewaluacja potencjału biomarkerowego wyselekcjonowanych krążących miRNA w kontekście determinacji statusu metabolicznego (zdefiniowanego obecnością T2DM), zaawansowania remodelingu lewej komory serca oraz ACS. Analizy te osadzono w paradygmacie patofizjologicznym szlaku SGLT2

oraz w kontekście klinicznym 26-tygodniowej interwencji terapeutycznej z zastosowaniem empagliflozyny.”. Następnie opisuje 7 celów szczegółowych, w których uwzględnia zarówno ocenę procesów biologicznych, jak i weryfikację użyteczności badanych miRNA jako potencjalne biomarkery. Pomiędzy rozdziałem Cele a metodami Doktorantka umieściła rozdział opisujący schemat przeprowadzonego badania. Znacząco ułatwia to zrozumienie założeń, ale również śledzenie zmian ekspresji poszczególnych substancji badanych przez Autorkę.

Dalej Doktorantka opisuje populację badaną oraz użyte metody. Warto podkreślić, że badanie jest oparte o jednorodną populację 106 pacjentów po zawale serca z wieloośrodkowego prospektywnego badania EMMY, prowadzonego m.in. przez Uniwersytet w Graz. Szczególne znaczenie dla tego eksperymentu ma fakt, że chorzy byli obserwowani w okresie 26 tygodni i dostępne były próbki osocza zarówno z momentu włączenia do badania, jak i po pół roku, co umożliwia ocenę przebiegu zjawisk biologicznych w czasie i zmniejsza ryzyko tzw. odwrotnego wnioskowania. W kolejnych rozdziałach Autorka przedstawia zaawansowaną metodologię badań molekularnych, która była użyta w jej badaniach. Zwraca uwagę duże przywiązanie do szczegółu, kontroli jakości oraz weryfikacji uzyskanych wyników, co dobrze świadczy o warsztacie naukowym doktorantki. Bardzo wartościowe i również wskazujące na pełen profesjonalizm są szczegółowe opisy poszczególnych etapów analizy bioinformatycznej i całego wnioskowania sieciowego *in silico*. W ostatniej części rozdziału dotyczącego metodologii Doktorantka przedstawia również ograniczenia badania, co wskazuje na dużą dojrzałość naukową i zrozumienie mocnych, ale również słabszych stron swoich badań naukowych.

W rozdziale Wyniki Autorka przedstawia uzyskane rezultaty, rozpoczynając od analizy *in silico* oraz identyfikacji genów, które potencjalnie mogą być regulowane przez badane miRNA. Następnie przedstawia wyniki ekspresji wybranych miRNA w poszczególnych predefiniowanych grupach i ich zmiany w czasie.

Rozprawę podsumowuje dobrze napisana i sprawnie poprowadzona dyskusja konfrontująca wyniki własne Doktorantki z danymi z literatury. Ponownie chciałbym podkreślić dojrzałość naukową Doktorantki, która wyraża się m.in. w szczegółowym opisie ograniczeń badania przedstawionym w dyskusji, w prezentacji przyszłych kierunków badań oraz ważkich implikacji klinicznych wynikających z jej wyników.

Swoją pracę Autorka podsumowała w 10 wnioskach:

1. „Oś SGLT2-ncRNA stanowi złożony układ regulacyjny łączący sygnalizację metaboliczną, zapalną, oksydacyjną, profibrotyczną i sercowo-naczyniową. Analiza bioinformatyczna i przeglądowa uzasadniają wybór miRNA jako kandydackich biomarkerów przebudowy pozawałowej i zaburzeń metabolicznych.
2. U pacjentów po ACS obecność T2DM wiąże się z odmiennym profilem ekspresji krążących miRNA. Najbardziej wyraźne różnice dotyczą niższej ekspresji miR-210-5p oraz wyższej ekspresji miR-195-5p u pacjentów z T2DM.
3. MiR-210-5p może być interpretowany jako marker zaburzonej odpowiedzi na hipoksję i stres metaboliczny u pacjentów z T2DM po ACS. Jego wzrost po 26 tygodniach obserwacji sugeruje udział w procesach adaptacyjno-naprawczych, przy utrzymującym się wpływie cukrzycy na ten szlak.
4. MiR-195-5p wydaje się odzwierciedlać przewlekły komponent metabolicznonaczyniowy związany z T2DM i podwyższonym HbA1c. Jego wyższa ekspresja u pacjentów z cukrzycą wskazuje na potencjalny związek z dysfunkcją śródbłonna, stresem oksydacyjnym, apoptozą i zaburzoną angiogenezą.
5. MiR-21-5p, którego ekspresja istotnie zmniejszała się po 26 tygodniach, może odzwierciedlać wygaszanie procesów zapalno-włóknieniowych i przebudowy mięśnia sercowego w okresie pozawałowym. Ze względu na brak bezpośredniego porównania z placebo, obserwacja ta nie przesądza o przyczynowym wpływie empagliflozyny.
6. MiR-1-5p jest najsilniej związany z ciężkością ACS w badanej kohorcie. Wyższa wyjściowa ekspresja miR-1-5p u pacjentów z LVEF $\leq 40\%$ wskazuje, że cząsteczka ta może odzwierciedlać uszkodzenie kardiomiocytów oraz wczesną dysfunkcję lewej komory.
7. Panel wielomarkerowy obejmujący wysokie miR-1-5p, niskie eGFR i wysokie NTproBNP poprawia identyfikację pacjentów z LVEF $\leq 40\%$ w porównaniu z pojedynczymi markerami. Wynik ten potwierdza potencjał integracji biomarkerów molekularnych z klasycznymi parametrami kliniczno-laboratoryjnymi.
8. Obserwowane zmiany ekspresji miRNA w trakcie 26 tygodni leczenia empagliflozyną są biologicznie spójne z potencjalnym działaniem kardioprotekcyjnym inhibitorów SGLT2, ale nie stanowią definitywnego dowodu przyczynowego efektu leku. Do potwierdzenia takiego efektu konieczne są analizy porównawcze z grupą placebo oraz modele uwzględniające interakcję czasu i leczenia.
9. Krążące miRNA mają potencjał jako biomarkery stratyfikacji ryzyka po ACS, jednak ich zastosowanie kliniczne wymaga dalszej walidacji w większych, niezależnych i zróżnicowanych populacjach oraz standaryzacji procedur przedanalitycznych, izolacji RNA, normalizacji i oznaczeń qRT-PCR.
10. Dalsze badania powinny obejmować prospektywną walidację paneli miRNA, analizę pełnej dynamiki czasowej po ACS, ocenę różnic między STEMI i NSTEMI, porównanie ramienia empagliflozyny z placebo oraz badania funkcjonalne in vitro i in vivo potwierdzające mechanistyczną rolę zidentyfikowanych miRNA.”

Wnioski w dużej mierze odpowiadają założonym celom, jednak w pewnej części nie wynikają bezpośrednio z przeprowadzonych eksperymentów, a z analizy bibliograficznej i

znajomości literatury (np. uwzględnione we wnioskach twierdzenia dotyczące odzwierciedlenia przez poszczególne miRNA poszczególnych procesów biologicznych), aczkolwiek należy przyznać, że analiza danych zastanych należała do celów rozprawy doktorskiej.

Z obowiązku recenzenta chciałbym w sposób krytyczny odnieść się do niektórych, mniej istotnych, elementów rozprawy.

- W metodologii należałoby dokładniej określić jaką ocenę przeprowadzono po 26 tygodniach. Według obecnej wersji wydaje się, że na koniec obserwacji wykonano jedynie pobranie krwi, a ocenę kliniczną i echokardiograficzną wykonano jedynie w ostrej fazie – przy przyjęciu do szpitala. Ogranicza to nieco znaczenie badania, gdyż nie ma możliwości oceny związku zmiany stanu klinicznego ze zmianą ilości badanej substancji.
- W tabelach są zmienne: Troponina T centralna oraz hsTroponina, które są wyrażone w tych samych jednostkach, dają podobne wyniki, więc pojawia się pytanie czym się te zmienne różnią, jakie jest tego znaczenie i jaka troponina (T czy I) była badana metodą wysokoczułą i czy Troponina T centralna też nie była badana tą metodą.
- Pojawia się określenie Creatinine zamiast kreatynina
- Dlaczego autorka nie przedstawiła w Tabeli 6 ekspresji wszystkich badanych miRNA w zależności od wyjściowej LVEF, a jedynie wspomniała w tekście o związku miR-1-5-p
- Dlaczego Autorka nie przeanalizowała longitudinalnych zmian ekspresji miRNA w zależności od wyjściowej LVEF?
- Trudno znaleźć praktyczne zastosowanie dla wniosku 7, gdyż najlepszym sposobem identyfikacji dysfunkcji lewej komory jest pomiar LVEF – dużo tańszy i dostępny niż pomiar miRNA, natomiast ciekawą obserwacją jest fakt, że miR-1-5-p jest związany z gorszą funkcją skurczową w sposób niezależny od eGFR i NT-BNP i w ten sposób może nam dawać dodatkowe informacje odnośnie zachodzących procesów.
- Autorka powinna zachować większą ostrożność przy formułowaniu wniosków dotyczących znaczenia zmiany ekspresji poszczególnych miRNA w okresie założonej obserwacji, gdyż mogą one wynikać z bardzo różnych przyczyn, a w przeprowadzonym badaniu nie ma grupy kontrolnej, do której można byłoby porównać wyniki. Dlatego spadek ekspresji pomiędzy okresem ostrym a obserwacją odległą może być związany z normalizacją stężenia po wzroście w trakcie fazy ostrej zawału, jak też spadkiem ekspresji w wyniku przewlekłych

procesów adaptacyjnych. Bez odniesienia do odpowiednio zdefiniowanej grupy kontrolnej, wnioskowanie musi być bardzo ostrożne.

- W dyskusji Autorka pisze (str 99): „istotnym punktem końcowym badania, była identyfikacja miR-1-5p”. Był to raczej istotny wynik. Punkty końcowe badania są to zdarzenia określające mierzalną zmianę stanu zdrowia, predefiniowane przed jego rozpoczęciem, które są oceniane w trakcie badania. Dlatego identyfikacja nowego miRNA nie może być punktem końcowym badania.

Wzmiankowane niedociągnięcia nie wpływają istotnie na moją bardzo wysoką ocenę wartości merytorycznej pracy doktorskiej lek. Ewy Jarosz-Popek, a mają charakter jedynie stymulacji dyskursu naukowego.

Chciałbym ze wszęch miar podkreślić wyjątkowy zakres wykonanych prac badawczych i wysoką jakość uzyskanych wyników. Nie mam wątpliwości, iż wyniki zostaną opublikowane w wiodących periodykach naukowych i będą w przyszłości będą wielokrotnie cytowane. Na wielkie uznanie zasługuje połączenie badania klinicznego z nowoczesnymi analizami molekularnymi oceniającymi ekspresję miRNA oraz z analizą *in silico*, bazującą w dużej mierze na wcześniej opublikowanych danych. Jest to szandarowy przykład optymalnego połączenia różnych narzędzi badawczych, świadczący o dojrzałości naukowej Doktorantki i jej gotowości do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Przedstawiona do oceny rozprawa na stopień doktora nauk medycznych lek. Joanny Jarosz-Popek p.t.: „Integracja sieci niekodujących RNA powiązanych z SGLT2 oraz krążącymi mikroRNA jako biomarkerów w zawale mięśnia sercowego i cukrzycy typu 2.” jest, moim zdaniem, spójnym tematycznie i metodologicznie rozwiązaniem problemu naukowego, wskazuje na oryginalność podejścia do badań naukowych i jest świadectwem wysokiego poziomu wiedzy teoretycznej oraz umiejętności Doktorantki w zakresie samodzielnego prowadzenia pracy naukowej w zakresie nauk medycznych. Nie mam wątpliwości, że 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 zatem zaszczyt wystąpić do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie lek Joanny Jarosz-Popek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Karol Adam Kamiński