



Warszawa, 24 lipca 2020 roku

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Kamila Aleksandra Kobaka:

**Wpływ dostępności żelaza na zmiany strukturalne komórek mięśni szkieletowych  
oraz komórek mięśnia sercowego**

Niewydolność serca stanowi prawdziwą „epidemię” XXI wieku, nawet w czasach, kiedy pandemia COVID-19 jest głównym tematem codziennych rozważań o zdrowiu. Wydłużenie średniej długości życia, wzrastające rozpowszechnienie czynników ryzyka chorób cywilizacyjnych oraz - paradoksalnie - skuteczne leczenie ostrych zespołów wieńcowych prowadzą do wzrostu zapadalności na niewydolność serca. Mimo ogromnych postępów farmakoterapii i leczenia interwencyjnego niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową, rokowanie w tej chorobie pozostaje bardzo poważne. Co więcej, do tej pory nie dysponujemy skutecznym leczeniem niewydolności serca z zachowaną frakcją wyrzutową. Dlatego kluczowe znaczenie ma poszukiwanie nowych strategii terapeutycznych niewydolności serca. Nie jest to możliwe bez zrozumienia patomechanizmów prowadzących do jej rozwoju lub związanych z nasileniem jej objawów. Przedstawiona do recenzji praca mgr inż. Kamila Kobaka dotyczy tych właśnie zagadnień z obszaru medycyny translacyjnej.

Jednym ze stanów nasilających dysfunkcję mięśnia sercowego i mięśni szkieletowych u pacjentów z niewydolnością serca jest niedobór żelaza. U chorych z niewydolnością serca niedobór żelaza, niezależnie od współistnienia niedokrwistości, wiąże się z gorszym rokowaniem, a dożylna suplementacja żelaza w przypadku jego niedoboru - ze zmniejszeniem nasilenia objawów niewydolności serca, poprawą wydolności wysiłkowej i jakości życia oraz redukcją ryzyka hospitalizacji z powodu niewydolności serca. Należy podkreślić, że Doktorant swoje badania przeprowadzał w znakomitym, polskim ośrodku kardiologicznym, w którym było i jest inicjowanych i prowadzonych wiele pionierskich badań dotyczących znaczenia niedoboru żelaza oraz jego suplementacji w niewydolności serca, w tym m.in. toczące się obecnie międzynarodowe randomizowane badanie kliniczne AFFIRM-AHF, a Promotor pracy, Pani Profesor Ewa Jankowska, jest światowym ekspertem w zakresie problematyki niedoboru żelaza w niewydolności serca. Badania ośrodka wrocławskiego były podstawą do umieszczenia w wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego z 2016 roku zalecenia dożylniej

suplementacji żelaza u objawowych pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową i niedoborem żelaza. Szczególnego podkreślenia wymaga fakt, że Autorami wspomnianego dokumentu, obowiązującego wszystkich kardiologów w Europie, są Pan Profesor Piotr Ponikowski i Pani Profesor Ewa Jankowska, co również świadczy o niezwykle silnej randze Ośrodka, z którym związany jest Doktorant.

Jednak, mimo że suplementacja żelaza weszła już do standardów leczenia niewydolności serca, dokładne mechanizmy prowadzące do dysfunkcji mięśni w przebiegu niedoboru żelaza u tych chorych nie zostały dotychczas w pełni poznane. W świetle powyższych rozważań, **temat pracy** mgr inż. Kamila Kobaka oceniam jako bardzo aktualny, istotny poznawczo i mający potencjalnie duże implikacje kliniczne.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest oparta na **cyklu 2 prac**, na które składa się **artykuł oryginalny** oraz **artykuł przeglądowy**. Oba te artykuły zostały opublikowane w języku angielskim w prestiżowych recenzowanych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania: *International Journal of Molecular Medicine* (Impact Factor za rok 2018 [rok publikacji] - 2,928) i *Heart Failure Reviews* (Impact Factor za rok 2018 [jak podano w rozprawie] - 4,015; za rok 2019 [rok publikacji] podany obecnie - 3,538). Doktorant jest pierwszym autorem obu tych artykułów, a dołączone do rozprawy oświadczenia wszystkich Współautorów wskazują na znaczący indywidualny wkład Doktoranta w planowanie badań, przeprowadzanie eksperymentów, analizę i interpretację danych oraz przygotowanie tekstu obu manuskryptów.

Rozprawa została opatrzona spisem treści, wprowadzeniem, opisem celów projektu badawczego, zwięzłym opisem materiałów i metod, podsumowaniem i wnioskami, streszczeniami w języku polskim i angielskim, wykazem piśmiennictwa oraz załącznikami, w skład których wchodzi w.w. oświadczenia Współautorów oraz wykaz publikacji Doktoranta (10 prac pełnotekstowych o wysokim sumarycznym współczynniku oddziaływania [Impact Factor - 43,4; 329 punktów MNiSW/KBN], z czego jako pierwszy autor - 2 prace, włączone do omawianej rozprawy doktorskiej; oraz 18 streszczeń zjazdowych: z kongresów Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego i prestiżowych konferencji międzynarodowych - 5 jako pierwszy autor). Zapewne dobrym uzupełnieniem pracy, ułatwiającym lekturę, byłby wykaz stosowanych skrótów. Rozprawa obejmuje 65 stron. Całość została zredagowana przejrzyście i starannie.

**Tytuł pracy** właściwie odzwierciedla treść rozprawy.

**Wprowadzenie**, w sposób przejrzysty podzielone na kilka logicznie uszeregowanych podrozdziałów, stanowi wartościowy element rozprawy, w którym Doktorant precyzyjnie i rzeczowo, a jednocześnie przystępnie i w sposób interesujący przedstawia dotychczasowy stan wiedzy i uzasadnia podjęcie tematu badawczego. Odnosi się przy tym do 88 pozycji aktualnego piśmiennictwa. Zarówno samo wprowadzenie, jak i dobór piśmiennictwa świadczy o bardzo dobrej znajomości tematu przez Doktoranta, dogłębnym zrozumieniu fizjologii gospodarki żelazem w warunkach prawidłowych, jak i zaburzeń w warunkach jego niedoboru, a także umiejętności przełożenia znajomości mechanizmów molekularnych na problematykę kliniczną, co zasługuje na tym większe uznanie, że Doktorant nie jest absolwentem kierunku lekarskiego.

**Cele projektu badawczego** są przedstawione jednoznacznie, chociaż w opinii recenzentki brakuje sformułowania jednego głównego celu w odniesieniu do całej rozprawy, stanowiącej przecież jednolitą całość tematyczną - w to miejsce Doktorant zdecydował się przedstawić bardziej szczegółowe cele oddzielnie dla każdej publikacji.

**Materiały i metody** zostały opisane zwięźle i rzeczowo, w sposób bardzo przystępny także dla klinicystów nieprowadzących badań *in vitro*. Metody statystyczne zostały dobrane prawidłowo.

**Pierwsza praca** wchodząca w skład cyklu prac niniejszej rozprawy doktorskiej jest **pracą oryginalną** (*Iron limitation promotes the atrophy of skeletal myocytes, whereas iron supplementation prevents this process in the hypoxic conditions*. Kobak K, Kasztura M, Dziegala M, Bania J, Kapuśniak V, Banasiak W, Ponikowski P, Jankowska EA. *Int J Mol Med*. 2018; 41: 2678-2686). Badanie było finansowane ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki. Celem badania była ocena wpływu zmiennej dostępności żelaza na morfologię miocytów szkieletowych oraz ekspresję w nich markerów atrofii mięśniowej w warunkach normoksji oraz hipoksji, imitującej niedotlenienie związane ze zmniejszoną perfuzją mięśni szkieletowych w niewydolności serca. W tym celu szczurze mioocyty szkieletowe hodowano w warunkach zmniejszonego, zwiększonego lub standardowego (kontrola) stężenia żelaza w warunkach normoksji lub hipoksji. W badaniu wykazano, że pod wpływem niedoboru żelaza

dochodzi do atrofii i maladaptacyjnych zmian w miocytach szkieletowych, a niedotlenienie (odpowiadające patofizjologicznym warunkom w niewydolności serca) nasila te niekorzystne zjawiska. Zidentyfikowano także procesy odpowiedzialne za te zmiany (aktywacja szklaku ubikwitynowo-proteasomowego, zwiększenie ekspresji desminy) oraz wykazano, że w warunkach hipoksji zwiększona dostępność żelaza może wykazywać działanie ochronne, przeciwdziałając atrofii miocytów szkieletowych, co częściowo tłumaczy wcześniejsze, kliniczne obserwacje dotyczące poprawy wydolności wysiłkowej po zastosowaniu suplementacji żelaza u pacjentów z niewydolnością serca. Część poczynionych w badaniu obserwacji, w tym te dotyczące ekspresji desminy w miocytach w zależności od dostępności żelaza, ma charakter pionierski.

**Druga praca** wchodząca w skład rozprawy doktorskiej jest **artykułem przeglądowym** (*Structural and functional abnormalities in iron-depleted heart*. Kobak KA, Radwańska M, Dzięgała M, Kasztura M, Josiak K, Banasiak W, Ponikowski P, Jankowska EA. *Heart Fail Rev.* 2019; 24: 269-277). Jak wynika z dołączonych do rozprawy oświadczeń Współautorów, Doktorant był odpowiedzialny za opracowanie znaczącej większości tej publikacji. W artykule szczegółowo przedstawiono patofizjologiczne następstwa niedoboru żelaza w mięśniu sercowym. Szczególnie ciekawa i nowatorska jest wnikliwa analiza wyników eksperymentów opierających się na transgenicznym modelu lokalnego niedoboru żelaza w mięśniu sercowym - obok opisu badań prowadzonych w zwierzęcych modelach niedoboru systemowego. Na jej podstawie Autorzy wykazali, że większość zaburzeń w strukturze i czynności kardiomiocytów, do których dochodzi w przypadku systemowego niedoboru żelaza, jest obserwowanych także w przypadku niedoboru lokalnego, a zatem niezależnie od niedokrwistości. Koresponduje to z obserwacjami z badań klinicznych u pacjentów z niewydolnością serca. W artykule opisano także korzystne efekty zastosowania terapii żelazem, zarówno w zwierzęcych modelach niedoboru systemowego, jak i lokalnego. Na koniec odniesiono powyższe obserwacje do wyników suplementacji żelaza u chorych z niewydolnością serca i niedoborem żelaza oraz przedstawiono przyszłe możliwe strategie terapeutyczne w tej grupie chorych.

**Podsumowanie i wnioski** są przedstawione w sposób syntetyczny i klarowny, odnoszą się do wcześniej przedstawionych celów badania i wskazują powiązania między wynikami

eksperymentów w modelach *in vitro* a wcześniejszymi obserwacjami klinicznymi i możliwymi implikacjami terapeutycznymi.

**Streszczenia** w języku polskim i angielskim prawidłowo podsumowują najważniejsze aspekty rozprawy.

Przedstawioną do recenzji pracę oceniam bardzo wysoko. Nieliczne błędy interpunkcyjne, czy niedoskonałości stylistyczne nie umniejszają wysokiego poziomu merytorycznego rozprawy. Jednocześnie w obliczu bardzo ważnego, ciekawego i istotnego praktycznie tematu podjętego przez Doktoranta i w oparciu o przedstawione wyniki nasuwają mi się następujące **pytania**:

**1)** Czy według Doktoranta ocena lokalnego niedoboru żelaza w mięśni sercowym (np. przy użyciu rezonansu magnetycznego) miałaby w praktyce klinicznej przewagę nad dotychczas stosowaną definicją niedoboru żelaza (jako niedoboru systemowego), uwzględniającą stężenie ferrytyny i saturację transferryny? Innymi słowy - czy (i jeśli tak, to czy można oszacować, jak często) możemy spodziewać się lokalnego niedoboru żelaza w mięśni sercowym u pacjentów z niewydolnością serca, bez systemowego niedoboru żelaza?

**2)** Jak wykazał Doktorant, w warunkach hipoksji zwiększona dostępność żelaza z jednej strony chroni przed atrofią miocytów szkieletowych, ale z drugiej strony może sprzyjać ich maladaptacyjnej przebudowie związanej ze zwiększoną ekspresją desminy i potencjalnie prowadzącej do upośledzenia ich kurczliwości. Czy zatem zalecane obecnie dawki karboksymaltozy żelazowej, stosowane w dożylniej suplementacji u pacjentów z niewydolnością serca nie niosą ze sobą ryzyka takiej niekorzystnej przebudowy miocytów szkieletowych?

**3)** Biorąc pod uwagę zwiększoną ekspresję ligaz E3 ubikwityny (*Atroginy-1* oraz *MuRF1*) - markerów atrofii mięśniowej - pod wpływem niedoboru żelaza także w warunkach normoksji, czy można by, w opinii Doktoranta, rozważać dożylną suplementację żelaza także u zdrowych osób z niedoborem żelaza, ale bez niedokrwistości i bez współistniejącej niewydolności serca, np. u osób w wieku podeszłym w ramach prewencji zespołu kruchości?

**Podsumowując**, przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi oryginalne dokonanie Doktoranta i świadczy o bardzo dobrym opanowaniu warsztatu pracy naukowej, wymaganym od kandydata na stopień doktora nauk medycznych. Uzyskane wyniki wzbogacają obecny stan wiedzy na temat patofizjologicznych konsekwencji niedoboru żelaza, a także niosą ze sobą ważny aspekt praktyczny.

Rozprawa doktorska 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.). Mam zaszczyt i przyjemność zwrócić się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z prośbą o dopuszczenie mgr inż. Kamila Aleksandra Kobaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, uwzględniając wysoką wartość merytoryczną rozprawy i jej niezwykle aktualny temat, który plasuje ją w głównym nurcie badań dotyczących niewydolności serca, wnoszę o wyróżnienie pracy.

*A. Kapłon-Cieślicka*

dr hab. n. med. Agnieszka Kapłon-Cieślicka  
I Katedra i Klinika Kardiologii  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego