

Dr hab. n. med. Marta Kałużna -Oleksy
I Klinika Kardiologii Katedry Kardiologii
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Długa 1/2, 61-848 Poznań

Poznań, 09.11.2023

Marta Kałużna-Oleksy, MD, PhD
1st Department of Cardiology
University of Medical Sciences in Poznan
Długa Street, 61-848 Poznan

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych autorstwa

**lek. Jakuba Morze
pt.**

**„Application of metabolomics in the assessment of risk and progression of
heart failure”**

**Tytuł polski: „Badanie metabolomu w ocenie ryzyka i przebiegu niewydolności
serca”**

Prezentowana rozprawa doktorska pt. "Zastosowanie metabolomiki w ocenie ryzyka i progresji niewydolności serca" została przygotowana przez lek. Jakuba Morze pod opieką prof. dr hab. n. med. Andrzeja Rynkiewicza oraz dr Marty Guasch-Ferre. Niewydolność serca (HF) jest złożonym zespołem klinicznym o wieloczynnikowej etiologii, charakteryzującym się wysoką zachorowalnością i śmiertelnością. Pomimo skuteczniejszych metod terapeutycznych, w tym zarówno farmakoterapii, jak i leczenia inwazyjnego, rokowanie u pacjentów z niewydolnością serca pozostaje złe. Poszukiwanie precyzyjnych metod identyfikacji pacjentów zagrożonych szczególnie złym rokowaniem jest niezbędne do indywidualizacji terapii. Metabolomika, czyli kompleksowa analiza metabolitów wytwarzanych w procesach komórkowych, ma potencjał do wyjaśnienia mechanizmów leżących u podstaw HF. Pomimo rosnącej popularności tej techniki, jej zastosowanie w HF było ograniczone. Ostatnie postępy w biologii molekularnej umożliwiły badanie procesów metabolicznych na niespotykanym dotąd poziomie dokładności. Metabolomika, rozumiana jako systematyczne badanie unikalnych chemicznych odcisków palców, które pozostawiają określone procesy komórkowe, może zaoferować nowy wgląd w mechanizmy leżące u podstaw HF.

Prospektywne badania oceniające zmiany w krążących metabolitach w kontekście incydentu HF są ograniczone, szczególnie w odniesieniu do metabolomiki NMR. Do najważniejszych ograniczeń poprzednich badań należą małe kohorty z niewielką liczbą przypadków, które nie mają wystarczającej mocy statystycznej do wykrycia istotnych sygnałów biologicznych, a także niezdolność do odpowiedniego uwzględnienia pozostałych czynników zakłócających. W związku z tym potrzebne jest prospektywne badanie kohortowe na dużą skalę z zatwierdzonymi testami metabolomicznymi oraz kompleksowymi danymi klinicznymi i fenotypowymi. Hipoteza badania zakłada, że zmiany metaboliczne w określonych szlakach (np. metabolizm FA, glikoliza i metabolizm aminokwasów) są istotnie związane z początkiem i progresją HF. Postawiono hipotezę, że te zmiany metaboliczne można zidentyfikować

za pomocą analizy metabolomicznej, a następnie skorelować je z podłużnym ryzykiem HF. Dodatkowo, miary metabolitów przyczyniających się do wystąpienia HF mogą być uchwycone przez subkliniczne zmiany w funkcji LV na etapie poprzedzającym rozpoznanie HF. Wreszcie, miary metabolitów, jako związane z patogenezą HF, są związane również z przeżyciem u pacjentów z diagnozą HF jako wskaźnik rokowania. Biorąc to pod uwagę, temat pracy doktorskiej jest aktualny i ważny z klinicznego punktu widzenia, ponieważ pozwala na identyfikację metabolitów związanych zarówno z rozwojem, jak i przebiegiem niewydolności serca. Może to przełożyć się na znalezienie nowych, ważnych biomarkerów w ocenie pacjentów z niewydolnością serca i znalezienie dla nich miejsca w codziennej praktyce klinicznej.

Formalna ocena pracy

Rozprawa doktorska jest 190-stronicową monografią, zawierającą streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografię. Praca podzielona jest na pięć rozdziałów i ma układ typowy dla oryginalnych prac badawczych, z wyraźnym podziałem na wstęp, cele, metodykę oraz materiał badawczy, wyniki, dyskusję i wnioski. Doktorant zgromadził kompletną, wartościową i aktualną literaturę - łącznie 184 pozycje. Cała cytowana przez doktoranta literatura została opublikowana w czasopiśmie anglojęzycznych, a większość z nich w czasopiśmie o wysokim współczynniku IF. O wadze i aktualności podjętego przez doktoranta tematu świadczy fakt, że wiele pozycji literaturowych pochodzi z ostatnich pięciu lat. Przy tak dużej liczbie piśmiennictwa należałoby rozważyć numerację, która ułatwiłaby odnalezienie właściwej pozycji.

Wstęp

Wstęp zawiera 28 stron, na których doktorant syntetycznie odnosi się do definicji, patofizjologii i klasyfikacji niewydolności serca. Opisuje również epidemiologię i rokowanie. We wstępie skupiono się na znaczeniu biomarkerów w diagnostyce i leczeniu pacjentów z HF. Wiele uwagi poświęcono zagadnieniu metabolomiki w kontekście niewydolności serca. Podkreślono, że dysregulacja określonych szlaków metabolicznych w przebiegu HF może skutkować podwyższonym poziomem krążących różnych klas metabolitów, co może czynić je potencjalnymi biomarkerami w ocenie pacjentów z HF. Wstęp jest obszerny i świadczy o dobrym przygotowaniu merytorycznym doktoranta, znajomości tematu i umiejętności krytycznej analizy wyników piśmiennictwa, co logicznie prowadzi do przedstawienia założeń i celów pracy.

Hipoteza i cele pracy

Cele badania zostały pokrótce scharakteryzowane. Doktorant przedstawił dwa główne cele:

1. (Cel badawczy 1a) Zbadanie powiązań między pomiarami metabolitów w osoczu a incydentem HF podczas obserwacji podłużnej.
2. (Cel badawczy 1b) Uzyskanie metabolomicznych sygnatur ryzyka HF reprezentujących wspólne ryzyko metaboliczne w patogenezie choroby.

oraz dwa cele drugorzędowe:

1. (Cel badawczy 2) Zbadanie związku pomiarów metabolitów osocza i sygnatur metabolomicznych HF z funkcją LV, ocenianą za pomocą rezonansu magnetycznego.
2. (Cel badawczy 3) Zbadanie związku pomiarów metabolitów osocza i sygnatur metabolomicznych HF z przeżyciem wśród uczestników z HF.

Moim zdaniem cele badania zostały sformułowane prawidłowo. Ze względu na stosunkowo niewielką liczbę opublikowanych badań obserwacyjnych w tym obszarze, praca doktoranta jest dobrym początkiem bardzo interesującego projektu. Jest cennym uzupełnieniem i pierwszym badaniem obejmującym tak dużą populację w kontekście metabolomiki i HF. Dodatkowo wskazuje na potencjalne kierunki badań w tematyce związku między pomiarami metabolitów osocza z występowaniem HF, a także związku z funkcją LV ocenianą za pomocą rezonansu magnetycznego serca. Dodatkową wartością jest poszukiwanie związku pomiarów metabolitów osocza z rokowaniem wśród pacjentów z HF.

W badaniu wykorzystano dane zebrane w UK Biobank. UK Biobank to zakrojone na szeroką skalę prospektywne badanie kohortowe z Wielkiej Brytanii, mające na celu zbadanie czynników genetycznych i niegenetycznych wpływających na choroby występujące w średnim i starszym wieku. Dzięki dogłębnej ocenie różnych ekspozycji i rygorystycznemu monitorowaniu różnych wyników związanych ze zdrowiem, inicjatywa ma na celu wspieranie innowacyjnych badań naukowych poprzez powszechną dostępność danych i zasobów. Dane z UK Biobank mogą być dostępne i wykorzystywane przez zewnętrznych współpracowników po przedłożeniu propozycji badawczej do zatwierdzenia i po uiszczeniu opłaty za dostęp. Dane wykorzystane w tym badaniu zostały uzyskane w ramach projektu nr 75001, zatytułowanego "Związek profili metabolomicznych z cechami MRI struktury i funkcji serca oraz z ryzykiem wystąpienia niewydolności serca w kohorcie UK Biobank". Projekt został zatwierdzony 23 września 2021 r. na okres trzech lat. Autor pracy doktorskiej jest głównym badaczem w tym projekcie. Badanie doktoranta było retrospektywną analizą danych zebranych w UK Biobank. W momencie dostępu do danych całkowita kohorta składała się z 502 422 uczestników. Brakujące dane kowariancyjne zasadniczo nie stanowiły kryterium wykluczenia, ponieważ zostały przypisane na późniejszym etapie przy użyciu odpowiednich metod. Subkohorty pacjentów zostały jasno zdefiniowane. Szczegółowe kryteria kwalifikacyjne dla każdej z podkohort były następujące:

1. Subkohorta prewencji pierwotnej (cele badawcze 1a i 1b) - Kwalifikowali się uczestnicy, u których nie występowała HF podczas wstępnej oceny wizyty i przeszli profilowanie NMR metabolitów z wyjściowej próbki osocza. Ponadto wykluczono uczestników z występującą CAD, VHD, AF, DM lub stosujących leki obniżające poziom lipidów. Wykluczenie uczestników z tymi częstymi zdarzeniami było motywowane ustanowieniem bardziej jednorodnej kohorty poprzez wykluczenie uczestników o zwiększonym ryzyku HF. Gwarantuje to, że wszelkie zaobserwowane zmiany metabolomiczne można z większą pewnością powiązać z rozwojem HF, a nie z innymi istniejącymi chorobami. Podobnie, wykluczenie użytkowników leków obniżających poziom lipidów miało na celu pominięcie zakłóceń wynikających z faktu, że terapia wpływa na pomiary lipoprotein, które stanowią znaczną część panelu NMR.

2. 2. Obrazowanie MRI układu sercowo-naczyniowego u zdrowych uczestników subkohorty (cel badawczy 2) - Kwalifikowali się uczestnicy, którzy na początku badania spełniali kryteria subkohorty prewencji pierwotnej. Kolejni uczestnicy, u których rozwinęły się stany znacząco upośledzające czynność serca (incydenty HF, CAD, VHD, AF, DM) między wartością wyjściową a datą oceny MRI. Celem było naśladowanie warunków, w których pozornie zdrowi uczestnicy przeszli ocenę czynności serca w celu zbadania subklinicznych zmian związanych z pomiarami metabolitów.
3. 3. Subkohorta przeżycia HF (cel badawczy 3) - Kwalifikowali się uczestnicy, u których występowała HF (diagnoza HF postawiona przed początkową wizytą oceniającą) i przeszli profilowanie NMR pomiarów metabolitów z wyjściowej próbki osocza, bez względu na status zdarzeń zdrowotnych predysponujących do HF.

Badanie UK Biobank uzyskało zgodę komisji etycznej NHS North West Multicenter Research Ethics Committee (numer zgody: 11/NW/0382) i uzyskało świadomą zgodę wszystkich uczestników. Zgoda etyczna została udzielona w 2011 r., a następnie odnowiona w 2016 r. i 2021 r. zgodnie z harmonogramem odnawiania co 5 lat.

Biorąc pod uwagę złożoność przeprowadzonej analizy, uzasadnione byłoby uwzględnienie opisu czasu trwania obserwacji w sekcji "Data sources and method", co pomogłoby w zrozumieniu wyżej wymienionych celów.

Opis metod badawczych i mnogość analizowanych parametrów świadczy o bardzo dobrych umiejętnościach naukowych doktoranta. Zastosowane przez doktoranta metody statystyczne są poprawne i pozwalają na prawidłową analizę uzyskanych wyników.

Wyniki

Wyniki pracy badawczej przedstawione są w sposób zwięzły, głównie w formie tabel i rycin. Doktorant unika powtarzania wyników w tekście i w tabelach/rycinach, co sprawia, że układ pracy jest przejrzysty dla czytelnika, mimo że wyniki zajmują znaczną część pracy.

Rozdział ten został podzielony na cztery podrozdziały, w których doktorant przedstawia markery pojedynczych metabolitów i ryzyko niewydolności serca, sygnatury wielu metabolitów i incydenty niewydolności serca, markery metabolitów w odniesieniu do funkcji serca w rezonansie magnetycznym oraz markery metabolitów w odniesieniu do przeżycia wśród pacjentów z niewydolnością serca. Ułatwia to czytelnikowi zrozumienie prezentowanych danych.

Dyskusja

Dyskusja została zawarta na 19 stronach. Uzyskane wyniki zostały sprawnie omówione, odnosząc je do najnowszej literatury światowej, co potwierdza dobre przygotowanie doktoranta do prowadzenia badań naukowych. Rozdział ten oceniam wysoko. Rozprawa doktorska, a w szczególności dyskusja, wskazują na dobre umiejętności syntetyczne i analityczne Doktoranta. Dyskusja jest polemiczna i na wysokim poziomie merytorycznym, co uzasadnia późniejsze wnioski pracy. Na uwagę zasługuje jedynie dysproporcja pomiędzy długością wstępu i dyskusji (28 vs. 19 stron) oraz fakt, że większość piśmiennictwa została wykorzystana we wstępie.

Dużym plusem jest uwzględnienie w pracy sekcji "Mocne strony i ograniczenia", która zajmuje około dwóch stron.

Wnioski

Wnioski są sformułowane w sposób zwięzły i zostały opracowane z wyników przeprowadzonych prac badawczych, a także odpowiadają na postawione na wstępie cele badania. Potwierdzają one nie tylko znaczenie badawcze uzyskanych wyników, ale także możliwość praktycznego przełożenia wniosków na praktykę kliniczną. Z uwagi na fakt, że cele zostały sformułowane w postaci konkretnych punktów, w mojej opinii wnioski powinny być sformułowane w takiej samej strukturze i odpowiadać na każdy punkt celu głównego i celów szczegółowych.

Uwagi i komentarze

Odnosząc się do ewentualnych ograniczeń rozprawy doktorskiej i moich uwag, pragnę zaznaczyć, że analizowana rozprawa doktorska nie posiada istotnych ani merytorycznych wad. Jako recenzent muszę jednak wspomnieć o kilku uwagach, które nasuwają mi się po lekturze rozprawy doktorskiej:

1. Badanie nie dotyczyło leczenia, a analiza pacjentów ze wstępnie rozpoznaną HF była tylko jednym z elementów analizy, natomiast opis leczenia stosowanego w tej populacji ogranicza się do "W odniesieniu do leków, 16% subkohorty stosowało leki przeciwcukrzycowe, 89% leki przeciwnadciśnieniowe, a 69% leki obniżające poziom lipidów". Moim zdaniem powinno to zostać uwzględnione w sekcji "Mocne strony i ograniczenia", np. informacja o braku możliwości podziału grupy w zależności od LVEF.
2. W pracy występują drobne błędy interpunkcyjne, które jednak nie wpływają na interpretację treści.

Przedstawione powyżej uwagi wynikają częściowo z dociekliwości naukowej recenzenta, a w większości mają charakter techniczno-redakcyjny. Nie mają one wpływu na bardzo wysoką ocenę merytoryczną rozprawy.

Podsumowanie

Oświadczam, że oceniana rozprawa doktorska lek. Jakuba Morze pt. "Application of metabolomics in the assessment of risk and progression of heart failure" spełnia wymagania określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789) i może być przedstawiona do publicznej obrony.

Podsumowując, uważam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska lek. Jakuba Morze jest pracą wartościową naukowo, dobrze przygotowaną pod względem warsztatowym i wnosi elementy poznawcze w zakresie wykorzystania metabolomiki w badaniu rozwoju HF, a także przebiegu HF i rokowania u pacjentów z już rozpoznaną HF. Ponadto wyniki przedstawione w niniejszym badaniu sugerują, że ocena pomiarów metabolitów w surowicy w kontekście HF może stać się nowym biomarkerem w tej populacji pacjentów. W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Jakuba Morze do kolejnych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Z uwagi na istotny wkład przedstawionej pracy w zrozumienie mechanizmów metabolicznych leżących u podstaw rozwoju i przebiegu niewydolności serca, wnoszę o wyróżnienie przedstawionej rozprawy doktorskiej.

Małgorzata Kosińska-Olewny