



Gdańsk, 24 stycznia 2022 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lekarza Piotra Konopelskiego pt. 'Wpływ kwasu indolo-3-propionowego, bakteryjnego metabolitu tryptofanu, na równowagę energetyczną, wodno-elektrolitową oraz ciśnienie tętnicze u szczurów'.

Badania ostatnich lat wskazują na coraz większą rolę mikroflory jelitowej i metabolitów bakterii jelitowych w regulacji energetycznej ustroju oraz ich wpływie na funkcję układu krążenia. Dotychczasowe badania dotyczyły głównie wpływu tlenku trimetyloaminy oraz siarczanu indoksyli na rozwój miażdżycy oraz jej powikłań. Brak jest natomiast danych dotyczących wpływu bakteryjnych metabolitów tryptofanu na parametry metaboliczne, m.in. roli kwasu indolo-3-propionowego i jego wpływu na regulację ciśnienia tętniczego, gospodarkę energetyczną ustroju oraz wodno-elektrolitową. Pomimo postępu w zakresie metod profilaktycznych i terapeutycznych, nadciśnienie tętnicze oraz otyłość stanowią istotny problem epidemiologiczny i należą do chorób cywilizacyjnych. Liczba chorych z nadwagą i otyłością wciąż wzrasta, stąd jednocześnie zwiększa się odsetek chorych z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą i chorobami układu krążenia.

W swojej pracy doktorskiej lek. Piotr Konopelski podjął się zbadania nowatorskiego i dotychczas nieznanego zagadnienia dotyczącego wpływu kwasu indolo-3-propionowego, bakteryjnego metabolitu tryptofanu, na parametry metaboliczne oraz układ krążenia u szczurów normotensyjnych. Celem szczegółowym pracy były (1) zbadanie wpływu bakteryjnego metabolizmu tryptofanu na parametry metaboliczne oraz wodno-elektrolitowe u szczurów, (2) zbadanie wpływu kwasu indolo-3-propionowego na bilans energetyczny u szczurów, (3) zbadanie wpływu parenteralnej suplementacji kwasu indolo-3-propionowego na ciśnienie tętnicze u

szczurów normotensyjnych, (4) zbadanie mechanizmów zaangażowanych w efekty hemodynamiczne wywierane przez kwas indolo-3-propionowy oraz (5) ocena kardiotoxyczności kwasu indolo-3-propionowego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Piotra Konopelskiego liczy 101 stron, stanowi cykl trzech prac oryginalnych opatrzonych wspólnym tytułem: „Wpływ kwasu indolo-3-propionowego, bakteryjnego metabolitu tryptofanu, na równowagę energetyczną, wodno-elektrolitową oraz ciśnienie tętnicze u szczurów”, w skład której wchodzi:

1. Konopelski, P., Ufnal, M. Indoles-gut bacteria metabolites of tryptophan with pharmacotherapeutic potential. *Current drug metabolism*, 19(10), 883-890, (2018). DOI: 10.2174/1389200219666180427164731, IF: 2,277, Punkty MNiSW wg listy z 2017r: 40.
2. Konopelski, P., Konop, M., Gawryś-Kopczyńska, M., Podsadni, P., Szczepanska, A., Ufnal, M. Indole-3-propionic acid, a tryptophan-derived bacterial metabolite, reduces weight gain in rats. *Nutrients*, 11(3), 591, (2019). DOI: 10.3390/nu11030591, IF 4,546, Punkty MEiN wg listy z 2021r: 140
3. Konopelski, P., Chabowski, D., Aleksandrowicz, M., Koźniewska, E., Podsadni, P., Szczepańska, A., Ufnal, M. Indole-3-propionic acid, a tryptophan-derived bacterial metabolite, increases blood pressure via cardiac and vascular mechanisms in rats. *American Journal of Physiology -Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*(2021). Artykuł przyjęty do druku. DOI: 10.1152/ajpregu.00142.2021IF 3,619, Punkty MEiN wg listy z 2021 r: 70

Prace te były opublikowane w latach 2018-2021 roku i we wszystkich trzech publikacjach doktorant jest pierwszym autorem. Łączna punktacja *Impact Factor* przedstawionego cyklu trzech publikacji będących przedmiotem rozprawy wynosi 10,442, a punktacja MNiSW wynosi 250. Ponadto, co zasługują na podkreślenie zasług naukowych, lek. Piotr Konopelski jest kierownikiem trzech projektów związanych z tematem pracy doktorskiej, co wskazuje na pracowitość, zaangażowanie, produktywność i ambicje naukowe.

W publikacji nr 1, która jest pracą poglądową doktorant bardzo szczegółowo opisał szlaki metabolizmu tryptofanu w ustroju oraz efekty biologiczne wywierane przez poszczególne metabolity tryptofanu. Lek. Piotr Konopelski podsumował fizjologiczne i patologiczne działania indoli (m.in. nieprawidłowy metabolizm i wzrost stężenia indoli u chorych z przewlekłą chorobą nerek, udział w patogenezie miażdżycy, włóknieniu serca, anemii, chorobie Alzheimera, nadciśnieniu tętniczym, chorobach serca, celiakii, schizofrenii, upośledzonej tolerancji glukozy, inne) oraz potencjalne możliwości terapeutyczne zahamowania mechanizmu działania indoli i modyfikacji ich stężenia w płynach ustrojowych. Ciekawe obserwacje dotyczą kwasu indolo-3-

propionowego, który może wywierać działanie antyoksydacyjne, cytoprotekcyjne oraz ograniczać wazodylatację zależną od donorów tlenu azotu. Praca ta wprowadza czytelnika w tematykę badań nad indolami i kierunkami przyszłych badań bakteryjnych metabolitów tryptofanu.

W publikacji nr 2, doktorant badał wpływ wytwarzanych przez bakterie jelitowe metabolitów tryptofanu na bilans energetyczny u szczurów. W swoich badaniach eksperymentalnych wykazał, że doustne podawanie antybiotyków istotnie obniżało stężenie metabolitów bakteryjnych tryptofanu w płynach ustrojowych, z towarzyszącym zwiększeniem przyrostu masy ciała. Zastosowanie diety o podwyższonej zawartości tryptofanu wywierało odmienny wpływ, prowadziło do zwiększenia syntezy metabolitów bakteryjnych, w tym kwasu indolo-3-propionowego, któremu towarzyszyło zmniejszenie przyjmowania pokarmów przez szczury. Parenteralna suplementacja kwasu indolo-3-propionowego była związana z dwukrotnym podwyższeniem stężenia tego metabolitu w krwi obwodowej z towarzyszącym obniżeniem przyrostu masy ciała, bez istotnego wpływu na przyjmowanie pokarmu oraz bilans wodno-elektrolitowy, nie obserwowano istotnych różnic w ilości wypijanej wody, diurezie, stężeniu sodu, potasu oraz kreatyniny w osoczu.

Wyniki dotychczasowych badań sugerują, że tryptofan może mieć wpływ na regulację układu krążenia poprzez zwiększanie kurczliwości mięśnia sercowego oraz regulację ciśnienia tętniczego. Ze względu na podobieństwo efektów metabolicznych tryptofanu oraz kwasu indolo-3-propionowego, w publikacji nr 3 doktorant badał wpływ kwasu indolo-3-propionowego na układ krążenia. Wyniki badań lek. Piotra Konopelskiego wykazały, że dożylna infuzja kwasu indolo-3-propionowego prowadziła do wzrostu ciśnienia tętniczego u szczurów normotensyjnych. Co ciekawe, najwyższy wzrost obserwowano przy zastosowaniu dawki podwyższającej około siedmiokrotnie stężenie tego metabolitu we krwi. Użycie wyższej dawki wywierało zmniejszenie efektu hipertensyjnego, z towarzyszącym obniżeniem częstości skurczów serca. Zablokowanie receptorów α -adrenegicznych prazosyną przed podaniem badanego związku spowodowało osłabienie efektu hipertensyjnego. Natomiast zastosowanie blokera zwojów autonomicznych (pentolinium) poza zahamowaniem efektu hipertensyjnego dodatkowo zniosło bradykardię, która była obserwowana po zastosowaniu kwasu indolo-3-propionowego. W kolejnych swoich doświadczeniach doktorant badał mechanizmy związane z hipertensyjnym działaniem kwasu indolo-3-propionowego i wykazał, że dożylna infuzja kwasu indolo-3-propionowego prowadziła do zwiększenia kurczliwości mięśnia sercowego oraz wywoływała zależny od dawki efekt naczynioskurczowy w naczyniach krezkowych pozbawionych śródbłonna. Ponadto, kwas indolo-3-propionowy ograniczał efekt wazodylatacyjny zależny od acetylocholino. Bezpośrednia ocena

wpływu kwasu indolo-3-propionowego na hodowlę kardiomiocytów in vitro wykazała, że kwas indolo-3-propionowy nie wywierał działania kardiotoksycznego, obserwowano wzrost żywotności kardiomiocytów.

Wnioski wyciągnięte przez doktoranta na podstawie przeprowadzonej analizy udokumentowanych wyników własnych i ich konfrontacji z bieżącym stanem zweryfikowały postawioną hipotezę badawczą, która zakładała, że bakteryjne metabolity tryptofanu, szczególnie kwas indolo-3-propionowy wywierają wpływ na gospodarkę energetyczną oraz ciśnienie tętnicze u szczurów. Najważniejsze wyniki badań lek. Piotra Konopelskiego wykazały:

1. Doustne podanie antybiotyku istotnie zmniejsza syntezę metabolitów bakteryjnych tryptofanu oraz zwiększa przyrost masy ciała u szczurów.
2. Zastosowanie diety o zwiększonej zawartości tryptofanu nasila syntezę endogennych oraz bakteryjnych metabolitów tryptofanu oraz zmniejsza przyrost masy ciała.
3. Stężenie kwasu indolo-3-propionowego w płynach ustrojowych ulega istotnym zmianom pod wpływem doustnego podania antybiotyku oraz diety o różnej zawartości tryptofanu.
4. Dwukrotne podwyższenie stężenia kwasu indolo-3-propionowego we krwi obwodowej jest związane ze zmniejszeniem przyrostu masy ciała u szczurów.
5. Podanie badanego metabolitu nie wywiera istotnego wpływu na parametry wodno-elektrolitowe u szczurów.
6. Dożylna infuzja kwasu indolo-3-propionowego podwyższa ciśnienie tętnicze u szczurów normotensyjnych.
7. Siedmiokrotne podwyższenie stężenia kwasu indolo-3-propionowego we krwi obwodowej związane jest z efektem hipertensyjnym.
8. W hipertensyjnym działaniu badanego związku pośredniczy układ współczulny.
9. Efekt hipertensyjny wywierany przez kwasu indolo-3-propionowego związany jest ze wzrostem kurczliwości mięśnia sercowego.
10. Badany związek powoduje skurcz naczyń krwionośny w mechanizmie niezależnym od śródbłonna oraz ogranicza efekt naczyniorozszerzający acetylocholinę.
11. Kwas indolo-3-propionowy nie wykazuje bezpośredniego efektu kardiotoksycznego w badaniu elektrokardiograficznym u szczurów oraz w hodowli komórkowej kardiomiocytów in vitro.

Wnioski wyciągnięte przez doktoranta zwracają uwagę na najistotniejsze punkty końcowe uzyskane w badaniu, które zostały sformułowane właściwie i przedstawiają się następująco:

1. Kwas indolo-3-propionowy wykazuje zbieżny z tryptofanem wpływ na gospodarkę energetyczną przez zmniejszanie przyrostu masy ciała.
2. Kwas indolo-3-propionowy podwyższa ciśnienie tętnicze, jednocześnie wpływając na wzrost kurczliwości mięśnia sercowego i mięśni gładkich naczyń.
3. Wzrastające stężenia badanego związku, odpowiedzialne za efekt hipertensyjny, zwiększają żywotność kardiomiocytów, nie wywierając jednoznacznego efektu kardi toksycznego.
4. Modyfikacja stężenia kwasu indolo-3-propionowego w organizmie gospodarza może stanowić punkt uchwytu dla farmakoterapii otyłości oraz nadciśnienia tętniczego.

W swojej rozprawie doktorskiej lek. Piotr Konopelski po raz pierwszy wskazał na istotną rolę kwasu indolo-3-propionowego na parametry metaboliczne oraz układ krążenia u szczurów normotensyjnych. Wyniki badań doktoranta podkreślają ważną rolę kwasu indolo-3-propionowego w regulacji ciśnienia tętniczego i efekt metaboliczny, co może otworzyć nowe kierunki badań i potencjalną możliwość leczenia nadciśnienia tętniczego i towarzyszącej otyłości.

We wniosku końcowym stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Piotra Konopelskiego pt. 'Wpływ kwasu indolo-3-propionowego, bakteryjnego metabolitu tryptofanu, na równowagę energetyczną, wodno-elektrolitową oraz ciśnienie tętnicze u szczurów', stanowi nowatorskie badanie naukowe, o czym świadczą uzyskane wyniki opublikowane w czasopiśmie z listy filadelfijskiej. Należy podkreślić, że zainteresowanie tematyką badań i wpływu mikrobioty na choroby układu krążenia w literaturze światowej mocno rozwinęło się w ciągu ostatniej dekady, wśród tych badań publikacje Zespołu Profesora Marcina Ufnala stanowią znaczny udział i są szeroko cytowane. Lek. Piotr Konopelski podjął w swojej rozprawie temat o ważnym znaczeniu z punktu widzenia mechanizmów działania kwasu indolo-3-propionowego wytwarzanego przez bakterie jelitowe na parametry hemodynamiczne układu krążenia. Wyniki tych badań eksperymentalnych mogą być podstawą zapoczątkowania dalszych badań u ludzi. Doktorant sumiennie udokumentował w swojej rozprawie doktorskiej wiedzę, znajomość problematyki mikroflory jelitowej i kluczową rolę bakterii jelitowych w powstawaniu zmian hemodynamicznych, umiejętność warsztatu naukowego i przygotowania manuskryptów do publikacji.

W mojej ocenie stwierdzam, że „Rozprawa doktorska lek. Piotra Konopelskiego spełnia warunki określone w art. 13 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.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.). W związku z powyższym składam przed Wysoką Radą Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Piotra Konopelskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na fakt, że praca ta wnosi znaczący nowatorski wkład w dotychczasową wiedzę, wyróżnia się oryginalnością, a uzyskane wyniki zostały już opublikowane w formie trzech publikacji w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej (łącznie IF=10,442) oraz fakt, że na prowadzenie niniejszego badania doktorant Piotr Konopelski otrzymał trzy granty (tj. Diamentowy Grant, Preludium 18, Projekt Młodego Badacza), w których pełnił rolę kierownika projektu, składam do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. Piotra Konopelskiego.

prof. dr hab. n. med. Dagmara Hering
Klinika Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii
Gdański Uniwersytet Medyczny

prof. dr hab. n. med. Dagmara Hering
specjalista chorób wewnętrznych
HIPERTENSJOLOG, KARDIOLOG
1306699

Dagmara Hering