

Warszawa, 2025.12.31

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Klaudii Gutowskiej

„Receptor końcowych produktów glikacji jako punkt wspólny szlaków metabolicznych dla otyłości i jej powikłań”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lekarz medycyny Klaudii Gutowskiej stanowi cykl prac poświęconych roli szlaku receptora końcowych produktów zaawansowanej glikacji (RAGE) w rozwoju powikłań kardiometabolicznych związanych z otyłością u ludzi. Inspiracją do podjęcia powyższej tematyki badawczej była wiedza pochodząca z prac eksperymentalnych na modelach zwierzęcych otyłości, wskazując na znaczenie szlaku RAGE w rozwoju zapalenia metabolicznego. W badaniach tych wykazano, że wyłączenie (knock-out) genu kodującego RAGE chroni gryzonie przed kumulacją tkanki tłuszczowej i rozwojem zapalenia metabolicznego nawet w przypadku wytworzenia dodatniego bilansu energetycznego. Na podstawie prowadzonych badań Autorka dążyła do ustalenia, czy znaczenie szlaku RAGE w rozwoju powikłań kardiometabolicznych indukowanych zapaleniem metabolicznym jest takie samo u ludzi, jak w opisywanych modelach zwierzęcych.

Autorka podejmuje ciekawe aspekty patofizjologii i genetyki, o których wiedza wydaje się niewystarczająca dla większości specjalistów, w tym diabetologów i kardiologów. Biorąc pod uwagę narastającą liczbę pacjentów z chorobą otyłościową, zarówno wśród dorosłych, ale też i dzieci problem zapobiegania i leczenia powikłań tej choroby, w tym wynikających z progresji otyłości do cukrzycy i uszkodzenia układu sercowo-naczyniowego urasta do rangi jednego z czołowych kierunków współczesnej medycyny. Poznanie mechanizmów łączących zapalenie metaboliczne u osób z nadwagą i otyłością z rozwojem powikłań kardiometabolicznych może stanowić podstawę dla dalszych badań nad farmakoterapią tego stanu na etapie subklinicznym, a więc dającym szansę na odwracalność zjawisk prowadzących do rozwoju cukrzycy czy zmian miażdżycowych zależnych i niezależnych od hiperglikemii.

Praca charakteryzuje się klasycznym układem. Autorka na początku pracy załączyła spis treści i wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, następnie wstęp, uzasadnienie połączenia prac w cykl, założenia i cel pracy, kopie publikowanych prac, podsumowanie i wnioski, spis pozycji literaturowych, opinie Komisji Bioetycznej oraz oświadczenia współautorów prac.

We wstępie Autorka przedstawia istotę omawianej problematyki. Autorka ogólnie opisuje epidemiologię otyłości, kryteria jej rozpoznania, ustosunkowując się krytycznie do znaczenia powszechnie uznanych narzędzi do oceny stanu odżywienia, takich jak BMI. Autorka podkreśla niedoszacowanie liczby osób obciążonych otyłością wynikające z niestosowania urządzeń precyzyjnie określających zawartość tłuszczowej i beztłuszczowej masy ciała. W szczegółowej części wstępu opisuje szlak receptora AGE, w tym mechanizm powstawania AGEs, budowę receptora AGE, związek RAGE z rozwojem odpowiedzi zapalnej i zapalenia metabolicznego, udział RAGE w patofizjologii cukrzycy typu 2 i jej powikłań, udział RAGE w patofizjologii miażdżycy. Na uwagę zasługuje podkreślenie przez Autorkę faktu, że AGEs mogą występować również w organizmach osób bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej,

ponieważ ich obecność stwierdza się w produktach o dużej zawartości cukrów prostych, jak również mogą powstawać w procesie przygotowywania pożywienia na drodze m.in. niewłaściwej obróbki cieplnej, a także mogą być dostarczane do organizmu wraz z dymem tytoniowym. Autorka wskazuje na znaczenie ligandów dla RAGE, którymi mogą być oprócz AGEs białka należące do rodziny S100, peptydy amyloidu ($A\beta$), priony oraz białka o wysokiej ruchliwości elektroforetycznej B1, co wskazuje na kierunki potencjalnych powikłań otyłości, w tym rozwój chorób neurodegeneracyjnych. Powstawanie powikłań związanych z otyłością generowanych w wyniku aktywacji szlaków zależnych od pobudzenia RAGE ilustruje rycina 1. Przyłączenie ligandu do receptora staje się ostatecznie aktywatorem zwiększonej transkrypcji genów kodujących cytokiny i cząsteczki adhezyjne. Autorka wskazuje także na rolę rozpuszczalnego RAGE(sRAGE), który pełni rolę receptora „wabikowego” uniemożliwiając wiązanie się ligandów z pełną formą receptora RAGE obecną na komórkach. Elementem genetycznym obecności powikłań otyłości autorka upatruje w nosicielstwie konkretnych polimorfizmów genu RAGE. Z kolei utrzymywanie nadekspresji genu kodującego RAGE wywołane reakcjami doprowadzającymi do zjawiska pamięci metabolicznej przekłada się na rozwój powikłań mikroangiopatycznych cukrzycy. W pracach cytowanych przez autorkę wykazano, że zahamowanie ekspresji *AGER* pozwala na uzyskanie częściowej ochrony przed utratą funkcji obwodowego układu nerwowego, zahamowanie progresji retino- czy nefropatii. Poszukując dowodów na związek nadekspresji RAGE z obecnością zmian makroangiopatycznych autorka znajduje potwierdzenia w pracach oryginalnych, że koreluje ona z wyższym stężeniem RAGE i związanych z nim ligandów, a podwyższone stężenie AGEs we krwi jest czynnikiem ryzyka ostrych zespołów wieńcowych i zgonu z powodu chorób układu krążenia u pacjentów z niewydolnością serca i cukrzycą typu 2

W kolejnym rozdziale autorka wskazuje na cel prowadzonych badań. Ten autorka realizowała poprzez ocenę trzech aspektów analizowanych zagadnień, jakimi były:

- a) Ocena ekspresji genu kodującego RAGE (*AGER*) w tkankach tłuszczowych chorych z otyłością współistniejącą cukrzycą typu 2 w odniesieniu do chorych z otyłością bez cukrzycy i osób o prawidłowej masie ciała, a także roli długiego niekodującego RNA *AGER-1* (*lncAGER-1*) w regulacji tego procesu.
- b) Zbadanie korelacji pomiędzy ekspresją kodującego receptor RAGE (*AGER*) a ekspresją genów kodujących adipokiny i cytokiny prozapalne w tkankach tłuszczowych chorych z otyłością w zależności od współwystępowania cukrzycy.
- c) Zbadanie związku między polimorfizmami zamiany pojedynczych nukleotydów (SNP) w *AGER* a wystąpieniem ostrych zespołów wieńcowych (ACS) w polskiej populacji pacjentów z miażdżycą naczyń wieńcowych.

Badanie zostało dobrze zaplanowane i prawidłowo skonstruowane. Doktorantka szczegółowo dobrała grupę badaną poprzez wykluczenie z oceny pacjentów nie spełniających kryteriów włączenia do badania, a ostatecznie prezentuje wyniki prowadzonych badań z dbałością o opisanie każdego badanego parametru.

Zaplanowane cele autorka prezentuje w cyklu 3 prac opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych, których łączny wskaźnik wpływu IF wynosi 12,5, a w punktacji MNiSW 380 punktów. Cykl publikacji obejmuje jedną pracę przeglądową oraz dwie prace oryginalne. Prace stanowią logiczny ciąg analizy poczynając od rozważań teoretycznych

wskazujących na możliwą rolę RAGE jako elementu strategii terapeutycznych leczenia otyłości i jej powikłań, by dalej prowadzić prace badawcze na materiale ludzkim odpowiadające na nurtujące Autorkę pytania dotyczące związku otyłości i cukrzycy typu 2 ze zmienioną ekspresją genu kodującego RAGE (AGER) i regulującego tę ekspresję długiego niekodującego RNA AGER-1 (lncAGER-1) w tkance tłuszczowej oraz znaczenie zmienności genetycznej RAGE dla rozwoju choroby niedokrwiennej serca i ostrych zespołów wieńcowych.

Pierwsza z cyklu prac pt. „Receptor for the Advanced Glycation End Products (RAGE) Pathway in Adipose Tissue Metabolism” opublikowanej w *International Journal of Molecular Sciences* (2023;24(13), 10982. <https://doi.org/10.3390/ijms241310982>; IF 2023 = 4,9), ma charakter pracy poglądowej prezentującej dotychczasowy stan wiedzy dotyczący udziału szlaku RAGE w powstawaniu dysfunkcji tkanki tłuszczowej w przebiegu otyłości. Opisano proces formowania AGEs oraz szlak sygnałowy RAGE, a także związek aktywacji tego szlaku z rozwojem zapalenia metabolicznego. Dodatkowo opisano aktualne badania szlaku RAGE analizujące znaczenie szlaku w rozwoju otyłości i towarzyszących jej powikłań na modelach zwierzęcych i u ludzi. Przedstawiono wyniki badań wskazujące, że wywołany aktywacją szlaku RAGE stan zapalny pełni kluczową rolę w rozwoju insulinooporności i cukrzycy typu 2 oraz wpływa na funkcję endokrynną tkanki tłuszczowej poprzez zaburzenie procesu sekrecji adipokin. Wskazano także potencjalne strategie terapeutyczne w leczeniu otyłości i towarzyszących jej zaburzeń metabolicznych poprzez ingerencję w szlak RAGE.

Druga z cyklu prac pt. „AGER-1 Long Non-Coding RNA Levels Correlate with the Expression of the Advanced Glycosylation End-Product Receptor, a Regulator of the Inflammatory Response in Visceral Adipose Tissue of Women with Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus” opublikowana w *International Journal of Molecular Sciences* (2023;24(24), 17447. <https://doi.org/10.3390/ijms242417447>; IF 2023 = 4,9) analizuje związek otyłości i cukrzycy typu 2 ze zmienioną ekspresją genu kodującego RAGE (AGER) i regulującego tę ekspresję długiego niekodującego RNA AGER-1 (lncAGER-1) w tkankach tłuszczowych. Oceniono także wpływ tych zmian na lokalne stężenia wybranych cytokin prozapalnych i adipokin. Badając tkanki tłuszczowe pochodzące od 62 kobiet chorujących na otyłość, 15 kobiet po chirurgicznym leczeniu otyłości 20 kobiet o prawidłowej masie ciała, wykazano, że w przebiegu otyłości dochodzi do wzrostu stężenia mRNA dla AGER w podskórnej tkance tłuszczowej, a spowodowana operacją bariatryczną redukcja masy ciała prowadzi do obniżenia tego stężenia, do wartości porównywalnych do obserwowanych w tkance tłuszczowej osób o prawidłowej masie ciała. Taki sam trend zaobserwowano dla lncAGER-1, którego poziom dodatkowo korelował z ekspresją AGER w tkance tłuszczowej kobiet chorujących na otyłość i cukrzycę typu 2. Ponadto w tej grupie stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy poziomem mRNA AGER a ekspresją genów kodujących mediatory stanu zapalnego. Z kolei, po podziale badanej grupy kobiet z otyłością w zależności od współwystępowania cukrzycy, zaobserwowano, że poziom mRNA dla AGER był istotnie wyższy w trzewnej tkance tłuszczowej u pacjentek z cukrzycą typu 2 i korelował ze zwiększonym stężeniem lncAGER-1 i mRNA genów kodujących rezystynę i interleukinę 1b. Uzyskane wyniki sugerują, że otyłość u kobiet wiąże się ze zwiększoną ekspresją AGER w podskórnej tkance tłuszczowej i zmiany te mogą ustąpić wraz z redukcją masy ciała. Jednak rozwój związanego z aktywacją RAGE zapalenia metabolicznego, predysponującego do insulinooporności i cukrzycy typu 2 dotyczy przed wszystkim tkanki tłuszczowej trzewnej. Autorzy konstatują, że biorąc pod uwagę opisowy charakter prowadzonych prac obserwacje te wymagają potwierdzenia w badaniach funkcjonalnych. Należy podkreślić, że jest to pierwsze doniesienie sugerujące, że lnc AGER-1 jest czynnikiem pośredniczącym w insulinooporności wynikającej z rozwoju otyłości oraz cukrzycy typu 2.

Trzecia praca pt. *"Advanced glycation end-product receptor gene (RAGE) polymorphism in patients with acute coronary syndrome – a case control study in the Polish population"* opublikowana w *BMC Medical Genomics* (2025;18(1):143.doi:10.1186/s12920-025-02215-3, IF 2025 = 2,7), koncentruje się na wpływie polimorfizmów pojedynczego nukleotydu w genie kodującym RAGE (rs2070600 G/A i rs184003 G/T) na predyspozycję do wystąpienia ostrego zespołu wieńcowego oraz choroby niedokrwiennej serca w populacji polskiej. Badaniem objęto 336 mężczyzn z wywiadem ostrego zespołu wieńcowego (ACS) i 160 zdrowych mężczyzn bez wywiadu choroby niedokrwiennej serca i innych chorób przewlekłych. W pracy zaobserwowano wyższą częstość genotypów zawierających allel T (GT + TT) polimorfizmu rs184003 u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym. Dodatkowo nosiciele allelu T (rs184003) charakteryzowali się istotnie niższym stężeniem cholesterolu HDL oraz wyższym stężeniem troponiny I w chwili wystąpienia ostrego zespołu wieńcowego. Dla polimorfizmu rs2070600 nie wykazano istotnego związku z ryzykiem ostrego zespołu wieńcowego. Nie zaobserwowano także istotnych korelacji między badanymi polimorfizmami a stopniem zwężenia tętnic wieńcowych w ocenie angiograficznej. Nie stwierdzono natomiast związku między badanymi polimorfizmami a ryzykiem wystąpienia ACS (< 50 roku życia) w badanej grupie. Uzyskane wyniki wskazują na potencjalną rolę polimorfizmu rs184003 *AGER* w kształtowaniu predyspozycji genetycznej do wystąpienia miażdżycy tętnic wieńcowych i ACS w polskiej populacji.

Na podstawie przedstawionych prac autorka wyciąga następujące wnioski:

1. W przebiegu otyłości u człowieka dochodzi do wzrostu ekspresji genu kodującego receptor końcowych produktów zaawansowanej glikacji (*AGER*) w tkance tłuszczowej podskórnej, a redukcja masy ciała wiąże się z obniżeniem stężenia mRNA tego genu do wartości porównywalnych do obserwowanych w tkance tłuszczowej osób o prawidłowej masie ciała.
2. U chorych z otyłością powikłaną cukrzycą typu 2 dochodzi do wzrostu ekspresji *AGER* w trzewnej tkance tłuszczowej, co koreluje ze zwiększonym lokalnym stężeniem prozapalnych adipokiny.
3. W regulacji ekspresji *AGER* w tkance tłuszczowej może pośredniczyć długie niekodujące RNA *AGER1* (*lncAGER-1*), choć obserwacja ta wymaga potwierdzenia w badaniach funkcjonalnych.
4. Obecność allelu T polimorfizmu rs184003 w genie kodującym receptor końcowych produktów zaawansowanej glikacji (*AGER*) może predysponować do rozwoju miażdżycy naczyń wieńcowych i jej powikłania jakim jest ostry zespół wieńcowy (ACS) w polskiej populacji.
5. Badane polimorfizmy *AGER* (rs184003 G/T, rs2070600 G/A) w polskiej populacji nie wydają się predysponować do wystąpienia ACS w młodym wieku (< 50 rż).

Reasumując, na szczególne podkreślenie zasługuje wysoki poziom dojrzałości badawczej i wysoka jakość metodologiczna prezentowana przez Doktorantkę. Autorka przeprowadziła badania w starannie dobranej i właściwie scharakteryzowanej grupie badanej, co wiązało się z jej bezpośrednim i aktywnym zaangażowaniem w proces rekrutacji oraz pozyskiwania danych klinicznych i laboratoryjnych. Zastosowana strategia badawcza została świadomie i konsekwentnie podporządkowana sformułowanym hipotezom badawczym, a dobór kolejnych

metod badawczych cechuje logiczna sekwencyjność oraz adekwatność do analizowanych zagadnień.

Uzyskane wyniki zostały poddane rzetelnej analizie i zestawione z obserwowanymi nieprawidłowościami patofizjologicznymi, co umożliwiło ich trafną interpretację. Sposób prezentacji danych cechuje wysoki stopień przejrzystości, co znajduje odzwierciedlenie w czytelnych zestawieniach tabelarycznych. Na uwagę zasługuje również dbałość o precyzję terminologiczną oraz klarowność narracji naukowej. Istotnym atutem pracy jest krytyczna analiza uzyskanych rezultatów, obejmująca zarówno ich mocne strony, jak i ograniczenia, co świadczy o dojrzałym podejściu Autorki do prowadzonych badań. Dyskusja wyników została właściwie osadzona w aktualnym stanie wiedzy, poparta licznymi i aktualnymi pozycjami piśmiennictwa, adekwatnymi do nowoczesnego i interdyscyplinarnego charakteru podejmowanej problematyki.

Niezależnym walorem przedstawianej pracy jest fakt, że badane przez Autorkę zagadnienia dotychczas nie znalazły wystarczającego wyrazu w piśmiennictwie naukowym. To, co warto jest podkreślić, to wykazanie potencjalnej roli IncAGER-1 w regulacji ekspresji genu kodującego RAGE (*AGER*) w tkance tłuszczowej chorych z otyłością oraz na związku podwyższonej ekspresji *AGER* z nasileniem zapalenia metabolicznego i ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 2. Tak wysoka jakość prac nie byłaby możliwa do przeprowadzenia gdyby nie pozyskanie na jej wykonanie środków z grantów pozyskanych przez panią profesor Alinę Kuryłowicz.

Niezależnie od wysokiej oceny merytorycznej rozprawy, rolą recenzenta jest także zwrócenie uwagi na pewne niedoskonałości oraz braki, których identyfikacja może okazać się pomocna dla Doktorantki w realizacji kolejnych przedsięwzięć badawczych. Poniżej przedstawiono uwagi o charakterze drugorzędym, niemające istotnego wpływu na całościową wartość naukową pracy, sformułowane w trakcie analizy rozprawy doktorskiej lek. med. Klaudii Gutowskiej.

W wykazie skrótów brak rozwinięcia akronimów anglojęzycznych. Wyjaśnienie akronimu PDGF wymaga poprawienia na „płytkopochodny czynnik wzrostu”. Podobnie w podpisie pod ryciną nr 1 brak wyjaśnienia skrótów przedstawionych na rycinie, co jest powszechną praktyką w pracach naukowych (co prawda Autorka wskazuje na ich obecność w tekście, a w pracy poglądowej zamieszcza je w prawidłowy sposób). We wstępie brak jest odniesienia do otyłości metabolicznej u osób z prawidłową masą ciała, a więc sytuacji klinicznej, w której osoba z prawidłowym BMI prezentuje podwyższoną zawartość tkanki tłuszczowej. Brakuje także wyraźnego opisu czym charakteryzuje się stan zapalenia metabolicznego. Opisując ligandy dla RAGE warto byłoby wskazać skrótowo jakie dalekosiężne znaczenie kliniczne może mieć wiązanie się opisanych ligandów z RAGE dla generowania konkretnych powikłań. Podobnie jak w poprzedniej sytuacji w pracy poglądowej takie odniesienie jest obecne.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalną i merytorycznie istotną analizę jednego z kluczowych problemów współczesnej medycyny, jakim jest identyfikacja nowych molekularnych punktów uchwytu o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym w leczeniu otyłości. Uzyskane przez Kandydatkę wyniki badań pozwalają na pogłębienie wiedzy dotyczącej mechanizmów patofizjologicznych leżących u podstaw rozwoju otyłości, a także umożliwiają lepsze zrozumienie zależności pomiędzy tymi mechanizmami a powstawaniem jej powikłań metabolicznych.

Przedstawiona 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).

W związku z powyższym przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscyplin Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Warszawie wniosek o dopuszczenie lek. med. Klaudii Gutowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie mając na uwadze bardzo wysoki poziom naukowy przedstawionych badań oraz doniosłość zaprezentowanych wyników składam do Wysokiej Rady wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej autorstwa lek. med. Klaudii Gutowskiej.

dr hab. med. Beata Mrozikiewicz-Rakowska, prof. CMKP

Warszawa, 31. Grudnia 2025 r.