

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. Anny Nowak-Szwed

pt. „Wpływ terapii empagliflozyną na krążące niekodujące RNA związane ze szlakami sirtuinowymi u pacjentów po zawale mięśnia sercowego”

przedłożonej w celu uzyskania stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: dr hab. n. med. i n. o zdr. Ceren Eyileten Postula

Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa 2026

Recenzent: prof. dr hab. n. med. Piotr Buszman, MBA, Centrum Badawczo Rozwojowe, American Heart of Poland, Gruppo San Donato, Krakowski Uniwersytet Medyczny im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,

1. Streszczenie i ocena merytoryczna rozprawy

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Anny Nowak-Szwed podejmuje aktualny i ważny problem współczesnej kardiologii jakim jest ograniczenie skutków zawału serca poprzez rozpoznanie molekularnych mechanizmów kardioprotekcyjnego działania inhibitorów kotransportera sodowo-glukozowego typu 2 (SGLT2). Szczególną wartością naukową pracy jest próba wyjaśnienia, w jaki sposób empagliflozyna może wpływać na procesy naprawcze i przebudowę mięśnia sercowego po ostrym zawale poprzez modulację szlaków sirtuinowych oraz regulujących je niekodujących RNA.

Korzyści kliniczne wynikające ze stosowania flozyn zostały w ostatnich latach dobrze udokumentowane u chorych z niewydolnością serca, przewlekłą chorobą nerek i cukrzycą, a także w populacjach bez cukrzycy. Dodatkowo badania, co prawda niejednoznacznie (EMPACT-MI), wyraźnie wskazują kardioprotekcyjną korzyść po zawale serca. A zatem wskazują na działanie wyraźnie wykraczające poza efekt hipoglikemizujący. Mimo silnych dowodów klinicznych pełny mechanizm kardioprotekcji pozostaje jednak niewyjaśniony. Wśród potencjalnych mechanizmów wymienia się poprawę metabolizmu energetycznego, wpływ na funkcję mitochondriów,

ograniczenie stresu oksydacyjnego i zapalenia, modyfikację procesów włóknienia oraz mechanizmy epigenetyczne. W ten ostatni obszar bezpośrednio wpisuje się przedstawiona rozprawa.

Głównym celem pracy była ocena roli krążących niekodujących RNA związanych ze szlakami sirtuinowymi u pacjentów po zawale mięśnia sercowego leczonych empagliflozyną oraz analiza ich przydatności jako potencjalnych biomarkerów odpowiedzi na terapię. Autorka połączyła analizę bioinformatyczną służącą do wytypowania kandydackich miRNA, oznaczenia molekularne ekspresji miRNA i genów SIRT1–SIRT7 w materiale biologicznym, dane kliniczne z randomizowanego badania EMMY oraz metody analizy statystycznej i uczenia maszynowego. Jest to dobrze skonstruowany, wielopoziomowy model badawczy, odpowiadający współczesnemu rozumieniu badań translacyjnych.

Za największą zaletę rozprawy uważam właśnie jej translacyjny charakter. Projekt nie kończy się na opisie zależności biologicznej w modelu eksperymentalnym ani na analizie czysto klinicznej. Punkt wyjścia stanowi hipoteza molekularna, następnie wykonywana jest selekcja potencjalnych regulatorów metodami *in silico*, a później walidacja wytypowanych cząsteczek w próbkach osocza pacjentów uczestniczących w randomizowanym badaniu klinicznym. Takie połączenie bioinformatyki, biologii molekularnej i medycyny klinicznej znacząco zwiększa wartość poznawczą i potencjalną użyteczność wyników.

Rozprawa została przedstawiona w formie spójnego tematycznie cyklu trzech publikacji, tzw. „zszywki”. Trzon i niewątpliwie najważniejszą część pracy stanowi pierwszoautorska publikacja oryginalna „Sirtuins and regulatory miRNAs as epigenetic determinants of empagliflozin-mediated recovery after acute myocardial infarction”, opublikowana w 2025 roku w czasopiśmie *Cardiovascular Diabetology*. Zgodnie z dokumentacją rozprawy czasopismo posiada Impact Factor 10,6, znajduje się w kwartylu Q1 i odpowiada 140 punktom ministerialnym. Jest to publikacja wysokiej jakości, a fakt pierwszego autorstwa Doktorantki ma zasadnicze znaczenie dla oceny jej samodzielności naukowej.

W głównym badaniu wykorzystano materiał pochodzący od 227 pacjentów po ostrym zawale mięśnia sercowego uczestniczących w randomizowanym badaniu EMMY, w którym porównywano empagliflozynę z placebo. Ekspresję wybranych miRNA oraz genów SIRT1–SIRT7 oceniano metodą qRT-PCR wyjściowo i po 26 tygodniach leczenia. Wykazano istotną

modulację ekspresji sirtuin podczas terapii empagliflozyną, w tym wzrost ekspresji SIRT6 oraz obniżenie ekspresji SIRT4. Wynik ten wspiera hipotezę, że wpływ inhibitorów SGLT2 na mięsień sercowy obejmuje regulację szlaków związanych z funkcją mitochondriów, metabolizmem energetycznym, odpowiedzią na stres i procesami zapalnymi.

Szczególnie interesującym wynikiem jest identyfikacja panelu obejmującego wyjściowe poziomy SIRT2, SIRT4, miR-182-5p oraz miR-302a-3p, który wykazywał wysoką wartość predykcyjną dla poprawy frakcji wyrzutowej lewej komory po 26 tygodniach terapii empagliflozyną. Dla łącznego panelu raportowano AUC 0,890, przy czułości 81% i swoistości 90%. Jest to najważniejsze osiągnięcie przedstawionego cyklu, ponieważ wykracza poza sam opis mechanizmu i wskazuje potencjalny kierunek wykorzystania odkrytych zależności w stratyfikacji pacjentów i personalizacji leczenia.

Druga praca oryginalna, „Integrative gene–metabolite network analysis of GLP-1 receptor agonists and related incretin pathways in cardiometabolic health”, opublikowana w npj Systems Biology and Applications, ma charakter bioinformatyczny i systemowy. Doktorantka jest w tej pracy drugim autorem. Publikacja ta jest nieco luźniej związana z główną osią empagliflozyna–ncRNA–SIRT, lecz stanowi wartościowe rozszerzenie kontekstu molekularnego nowoczesnych terapii kardiometabolicznych. Pokazuje, że leki oddziałujące na różne cele metaboliczne mogą konwergować na częściowo wspólne sieci regulujące metabolizm energetyczny, odpowiedź zapalną, funkcję naczyń i stres komórkowy.

Trzecia publikacja, „MicroRNAs and long non-coding RNAs associated with sirtuin pathways in myocardial ischemia/reperfusion injury”, opublikowana w Cardiovascular Drugs and Therapy, ma charakter przeglądowy. Doktorantka jest jej pierwszą autorką. Praca ta dostarcza biologicznego i mechanistycznego uzasadnienia dla wyników części klinicznej, porządkując dane dotyczące interakcji miRNA, lncRNA i sirtuin w uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym. Jest to ważny element cyklu, ponieważ wskazuje, że znaczna część dostępnych wcześniej dowodów pochodziła z badań przedklinicznych, podczas gdy rozprawa Doktorantki przenosi tę hipotezę na materiał pochodzący bezpośrednio od pacjentów po zawale.

Łączny dorobek trzech prac tworzących rozprawę wynosi według dokumentacji IF 17,2. Całkowity dorobek naukowy Doktorantki przedstawiony w rozprawie obejmuje 19 publikacji o łącznym IF 68,5 i 1455 punktach. Jest to dorobek wyraźnie ponadprzeciętny na etapie ubiegania

się o stopień doktora i świadczy o dużej aktywności naukowej oraz umiejętności funkcjonowania w zespołach badawczych o profilu klinicznym, molekularnym i bioinformatycznym.

2. Krótka ocena formalno - edytorska

Pod względem struktury dokumentu rozprawa jest przygotowana prawidłowo i w sposób typowy dla pracy doktorskiej opartej na cyklu publikacji. Zawiera stronę tytułową, słowa kluczowe, wykaz grantów, wykaz publikacji, streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, wstęp uzasadniający spójność cyklu, jasno zdefiniowane cele, kopie publikacji, podsumowanie i wnioski, piśmiennictwo, dokumentację komisji bioetycznej oraz oświadczenia współautorów określające indywidualny i procentowy wkład w powstanie prac. Układ jest czytelny, logiczny i nie budzi istotnych zastrzeżeń edytorskich.

3. Nowatorstwo i znaczenie badań na tle dotychczasowej wiedzy

Hipoteza wiążąca kardioprotekcyjne działanie inhibitorów SGLT2 z modulacją sirtuin i mechanizmami epigenetycznymi nie powstała całkowicie *de novo*. Packer już w 2020 roku wskazywał na SIRT1 i jego efekторы jako potencjalny element mechanizmu korzyści sercowych obserwowanych podczas stosowania inhibitorów SGLT2. Równolegle rozwijały się badania nad rolą niekodujących RNA w chorobach sercowo-naczyniowych i jako potencjalnych biomarkerów odpowiedzi na leczenie.

Istnieją także prace kliniczne dotyczące wpływu inhibitorów SGLT2 na krążące miRNA. Solini i wsp. w randomizowanym badaniu 40 chorych z cukrzycą typu 2 i nadciśnieniem wykazali, że czterotygodniowe leczenie dapagliflozyną zmienia ekspresję wybranych krążących miRNA, w tym zwiększa miR-30e-5p i zmniejsza miR-199a-3p. Z kolei Mone i wsp. wykazali u starszych chorych z HFpEF i cukrzycą, że trzymiesięczna terapia empagliflozyną wiąże się ze zmniejszeniem stężenia miR-21 i miR-92, które odnoszono do dysfunkcji śródbłonna. Badania te wspierają koncepcję epigenetycznego działania flozyn, ale dotyczą innych populacji klinicznych i nie analizują jednocześnie osi ncRNA–SIRT w okresie pozawałowym.

Biologiczne podstawy związku flozyn z sirtuinami wspierają również dane eksperymentalne. Lin i wsp. w 2024 roku, w mysim modelu ostrego zawału oraz w komórkach H9c2 poddanych hipoksji, wykazali korzystny wpływ dapagliflozyny na uszkodzenie kardiomiocytów i modulację rodziny sirtuin, szczególnie SIRT1 i SIRT3. Było to jednak badanie

przedkliniczne. Z perspektywy rozprawy szczególnie istotny jest więc fakt, że Doktorantka przenosi podobną hipotezę mechanistyczną do populacji ludzi po ostrym zawale serca.

Na tle wymienionych badań zasadnicza publikacja lek. Anny Nowak-Szwed zachowuje wyraźny element nowości. Nie jest to pierwsza praca sugerująca związek inhibitorów SGLT2 ani z miRNA, ani z sirtuinami, ale jej oryginalność polega na integracji tych dwóch osi w jednej analizie translacyjnej wykonanej w materiale pochodzącym z randomizowanego badania klinicznego po zawale mięśnia sercowego. Dodatkowo Autorzy wykorzystują analizy *in silico* do selekcji celów, walidację molekularną i modelowanie predykcyjne odpowiedzi funkcjonalnej lewej komory.

W mojej ocenie właściwym sformułowaniem nie jest zatem stwierdzenie, że Doktorantka „odkryła” sam związek flozyn z sirtuinami lub niekodującym RNA, ponieważ elementy tej koncepcji były wcześniej obecne w piśmiennictwie. Nowatorski jest natomiast sposób ich połączenia oraz kliniczna walidacja osi empagliflozyna–ncRNA–SIRT w populacji pacjentów po zawale. Jest to mocny i wiarygodny argument za oryginalnością rozprawy.

4. Samodzielność naukowa i pozyskiwanie finansowania

Bardzo wysoko oceniam konsekwencję Doktorantki w budowaniu własnego programu badawczego oraz pozyskiwaniu finansowania. Badania rozwijały się etapowo: od mini-grantu studenckiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, który pozwolił na uzyskanie wyników wstępnych, poprzez udział w projekcie Agencji Badań Medycznych, aż do samodzielnego projektu PRELUDIUM Narodowego Centrum Nauki pt. „Farmakogenomika inhibitorów SGLT2 - badanie roli empagliflozyny w epigenetycznej modyfikacji osi niekodujące RNA - sirtuiny - kotransporter sodowo-glukozowy-2 po zawale mięśnia sercowego”.

Lek. Anna Nowak-Szwed była kierownikiem zarówno mini-grantu, jak i grantu PRELUDIUM o wartości 208 866 PLN. Co istotne, według informacji przedstawionych w rozprawie wniosek PRELUDIUM uzyskał finansowanie przy pierwszym złożeniu. Taki ciąg rozwoju projektu - od danych pilotażowych, poprzez samodzielnie zdobyty grant zewnętrzny, do pierwszoautorskiej publikacji w wysoko punktowanym czasopiśmie Q1 - należy uznać za bardzo dobry dowód dojrzałości badawczej oraz zdolności do samodzielnego planowania i realizowania projektów naukowych.

Dodatkowym potwierdzeniem aktywności naukowej są prezentacje wyników na międzynarodowych kongresach, w tym American Diabetes Association i European Association for the Study of Diabetes. Całość wskazuje, że rozprawa nie jest jednorazowym osiągnięciem, lecz elementem konsekwentnie rozwijanej linii badawczej.

5. Najważniejsze mocne strony i ograniczenia.

Do najważniejszych mocnych stron rozprawy zaliczam:

1. Aktualny i klinicznie istotny problem badawczy dotyczący mechanizmów kardioprotekcji inhibitorów SGLT2;
2. Wyraźnie translacyjny charakter badań, łączący analizy *in silico*, badania molekularne i dane z randomizowanego badania klinicznego;
3. Wykorzystanie materiału biologicznego od stosunkowo dużej, jak na analizę molekularną, grupy 227 pacjentów po zawale mięśnia sercowego;
4. Pierwsze autorstwo Doktorantki w najważniejszej, bardzo wysoko punktowanej publikacji oryginalnej w Cardiovascular Diabetology, która *de facto* samodzielnie mogłaby stanowić rozprawę.
5. Identyfikację potencjalnego panelu biomarkerów odpowiedzi na empagliflozynę oraz próbę zastosowania metod uczenia maszynowego;
6. Spójne rozwijanie własnej tematyki badawczej i skuteczne pozyskiwanie finansowania, w szczególności grantu PRELUDIUM NCN;
7. wysoki całkowity dorobek publikacyjny Doktorantki na etapie ubiegania się o stopień doktora, co świadczy o dalszym zainteresowaniu Doktorantki tematem.

Bardzo wysoka ocena rozprawy nie zwalnia jednak z rutynowego wskazania jej ograniczeń, a w zasadzie przyszłych kierunków jako ciągu przyczynowo-skutkowego wynikającego z przedstawionych prac. Przede wszystkim przedstawione wyniki są silnym argumentem za udziałem osi ncRNA–SIRT w odpowiedzi na empagliflozynę, ale nie stanowią jeszcze ostatecznego dowodu na przyczynowy mechanizm kardioprotekcji w zawale serca, gdyż taka jednoznacznie nie została jeszcze potwierdzona klinicznie. Dodatkowo, działanie empagliflozyny zostało przede wszystkim potwierdzone u chorych na niewydolność serca i w kolejnym etapie,

można by ocenić oś ncRCA-SIRT właśnie w tej grupie chorych. Dodatkowo oceniano ekspresję genów i krążące miRNA; brak bezpośredniego pomiaru aktywności funkcjonalnej sirtuin w tkance mięśnia sercowego oraz eksperymentalnego wykazania, że modulacja określonych miRNA jest konieczna dla efektu empagliflozyny. Ograniczenie to jest naturalne dla translacyjnego badania prowadzonego na materiale klinicznym, ale powinno być podkreślone przy interpretacji mechanistycznej, przykładowo w modelu ostrego niedokrwienia-reperfuzji dużego zwierzęcia laboratoryjnego np. świni domowej.

Można również zauważyć iż w cyklu trzy publikacje nie mają identycznej siły związku z główną hipotezą. Główna publikacja w Cardiovascular Diabetology oraz praca przeglądowa o osi ncRNA–SIRT tworzą bardzo ścisły rdzeń merytoryczny. Praca dotycząca sieci gen–metabolit i szlaków inkretynowych pełni przede wszystkim funkcję kontekstową. Nie podważa to spójności cyklu, ale warto podczas obrony precyzyjnie wyjaśnić, w jaki sposób wyniki tej pracy wpłynęły na koncepcję i interpretację całej rozprawy.

7. Wniosek końcowy

Przedstawioną rozprawę doktorską lek. Anny Nowak-Szwed oceniam bardzo wysoko. Jej największą wartością jest nowatorskie i konsekwentnie przeprowadzone połączenie badań molekularnych, analiz bioinformatycznych oraz materiału pochodzącego z randomizowanego badania klinicznego. Szczególnie wartościowa jest próba wyjaśnienia jednego z potencjalnych epigenetycznych mechanizmów kardioprotekcyjnego działania inhibitorów SGLT2 poprzez oś empagliflozyna–ncRNA–sirtuiny oraz przełożenia tej wiedzy na możliwość identyfikacji biomarkerów indywidualnej odpowiedzi na leczenie.

Na podkreślenie zasługuje wysoki poziom naukowy publikacji stanowiących cykl, w szczególności pierwszoautorska praca oryginalna w Cardiovascular Diabetology, a także ponadprzeciętny całkowity dorobek publikacyjny Doktorantki. Bardzo pozytywnie oceniam również udokumentowaną umiejętność samodzielnego pozyskiwania środków na badania, od mini-grantu studenckiego po kierowany przez Doktorantkę grant PRELUDIUM Narodowego Centrum Nauki.

Przedstawione wyniki mają charakter oryginalny, poszerzają wiedzę dotyczącą molekularnych mechanizmów działania inhibitorów SGLT2 i wskazują interesujący kierunek

dalszych badań nad personalizacją farmakoterapii pacjentów po zawale mięśnia sercowego, ale również z niewydolnością serca. Sposób zaplanowania i realizacji badań, znajomość współczesnego piśmiennictwa oraz właściwa interpretacja wyników potwierdzają przygotowanie Doktorantki do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

W mojej ocenie rozprawa doktorska lek. Anny Nowak-Szwed pt. „Wpływ terapii empagliflozyną na krążące niekodujące RNA związane ze szlakami sirtuinowymi u pacjentów po zawale mięśnia sercowego” stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego oraz spełnia merytoryczne wymagania stawiane rozprawom doktorskim, w tym wymagania wynikające z art. 187 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Wnoszę zatem do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Anny Nowak-Szwed do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. Wnioskuje również o wyróżnienie pracy.

Piśmiennictwo uzupełniające przywołane w recenzji

1. Packer M. Cardioprotective effects of sirtuin-1 and its downstream effectors: Potential role in mediating the heart failure benefits of SGLT2 inhibitors. *Circ Heart Fail.* 2020;13(9):e007197. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007197.
2. Solini A, Seghieri M, Giannini L, et al. The Effects of Dapagliflozin on Systemic and Renal Vascular Function Display an Epigenetic Signature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(10):4253-4263. doi:10.1210/jc.2019-00706.
3. Mone P, Lombardi A, Kansakar U, et al. Empagliflozin Improves the MicroRNA Signature of Endothelial Dysfunction in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction and Diabetes. *J Pharmacol Exp Ther.* 2023;384(1):116-122. doi:10.1124/jpet.121.001251.
4. Lin YH, Tsai WC, Chiu CC, et al. The Beneficial Effect of the SGLT2 Inhibitor Dapagliflozin in Alleviating Acute Myocardial Infarction-Induced Cardiomyocyte Injury by Increasing the Sirtuin Family SIRT1/SIRT3 and Cascade Signaling. *Int J Mol Sci.* 2024;25(15):8541. doi:10.3390/ijms25158541.

5. von Lewinski D, Kolesnik E, Tripolt NJ, et al. Empagliflozin in acute myocardial infarction: the EMMY trial. Eur Heart J. 2022;43(41):4421-4432. doi:10.1093/eurheartj/ehac494.