

Klinika Hipertensjologii i Chorób Wewnętrznych
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie
ul. Unii Lubelskiej 1
71-252 Szczecin

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr biologii Maurycego Pawlaka, uczestnika Studiów Doktoranckich w Katedrze i Klinice Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Tytuł rozprawy:

„Wpływ wybranych polimorfizmów genu receptora endokannabinoidowego (CNR1) na ilość i dystrybucję tkanki tłuszczowej u kobiet postmenopauzalnych”

Badania nad patofizjologią układu endokannabinoidowego ponownie przeżywają renesans, między innymi ze względu na jego rolę w regulacji łaknienia i zachowań żywieniowych oraz wpływu na metabolizm węglowodanów i lipidów. Otwartym pozostaje pytanie, czy endokannabinoidy, przez receptor typu 1 (CB1) biorą bezpośrednio udział w gromadzeniu tkanki tłuszczowej u ludzi. Kobiety po menopauzie charakteryzuje skłonność do otyłości, szczególnie typu trzewnego. Oprócz zmienionych zachowań żywieniowych, ten typ gromadzenia tkanki tłuszczowej przypisuje się niedoborowi estrogenów. Dotychczas nie badano związków między zmienioną w wyniku polimorfizmów czynnością receptora CB1 a nadmiernym gromadzeniem tkanki tłuszczowej i jej rozmieszczeniem u kobiet po menopauzie. Ponadto, intensywne badania nad nowymi antagonistami receptora CB1, pozbawionymi ubocznych działań rimonabantu, dają nadzieję na skuteczną, celowaną farmakoterapię otyłości. Dlatego uważam wybór tematu rozprawy doktorskiej mgr Maurycego Pawlaka za słuszny i w pełni uzasadniony.

Przedstawiona do recenzji rozprawa liczy 120 stron maszynopisu i na układ typowy dla tego rodzaju opracowań.

Wstęp liczy 21 stron i zaczyna się krótkim rysem historycznym badań nad kannabinoidami i endogennym układem kannabinoidowym. W kolejnych podrozdziałach Autor wprowadza czytelnika w temat swojej pracy opisując budowę układu endokannabinoidowego, mechanizmy działania dwóch klasycznych receptorów tego układu: typu 1 (CB1 i typu 2 (CB2). Zwraca uwagę na szczególną właściwość receptora CB1 tj. presynaptyczne hamowanie wydzielania np. neurotransmitera w centralnym układzie nerwowym. Krótko charakteryzuje substancje będące swoistymi i nieswoistymi agonistami i antagonistami tych receptorów i przechodzi do opisu genu receptorów kannabinoidowych i jego polimorfizmów. Duży fragment wstępu poświęca opisowi roli układu endokannabinoidowego w regulacji

hormonalnej i energetycznej i co się z tym wiąże— jego udziałowi w powstawaniu otyłości, szczególnie u kobiet po menopauzie. Ostatni fragment to obszerny opis tkanki tłuszczowej z danymi na temat regulacji adipogenezy oraz procesów lipolizy.

Recenzentowi nieco zabrakło w opisie tkanki tłuszczowej dokładniejszego scharakteryzowania roli układu endokannabinoidowego i receptora CB1 w etapach adipogenezy i poszczególnych typach jej rozmieszczenia (można je odszukać w poprzedzających fragmentach wstępu). Z obowiązku też Recenzent odnotowuje pojedyncze błędy literowe (str. 7; 17), objaśnienie skrótu TFat jako „wskaźnik” całkowitej tkanki tłuszczowej oraz powtarzające się słowo „ekspresjonowany”.

Podsumowując: wstęp napisany jest w sposób przejrzysty i przystępny, świadczy o bardzo dobrej znajomości tematu i dobrze wprowadza czytelnika w cel pracy.

Celem pracy jest odpowiedź na dwa podstawowe pytania:

- czy polimorfizmy genu receptora CB1 (rs6454674, rs1049353, rs806381 i rs2023239) mają wpływ na ilość tkanki tłuszczowej u kobiet po menopauzie.
- czy wymienione polimorfizmy genu receptora CB1 mają wpływ na dystrybucję tkanki tłuszczowej?

Materiał i metody

Ten fragment rozprawy zajmuje 21 stron, z czego 18 dotyczy badań genetycznych.

Materiał stanowiło DNA wyizolowane z krwi obwodowej 271 kobiet w wieku od 50 do 60 lat, spełniających kryterium rozpoznania menopauzy i jasno sprecyzowane kryteria wykluczenia: palenie tytoniu, leki wpływające na gospodarkę węglowodanową i lipidową, hormonalna terapia zastępcza.

Wszystkie badane miały wykonane dokładne pomiary antropometryczne oraz badanie składu ciała metodą densytometryczną (aparatur Lunar DpX), wraz z oceną ROI: depozytu anerooidalnego i gynooidalnego. W badaniach genetycznych Autor posłużył się metodą Multipleks PCR z elektroforezą na żelu agarozowym i dodatkowo metodą obrazowania fragmentów na specjalnie przygotowanym chipie firmy BIO-RAD, która umożliwia także pomiar ilościowy poszukiwanych fragmentów powielonych w reakcji PCR. Produkty z reakcji PCR poddał minisekwencjonowaniu a następnie wyniki potwierdził sekwencjonowaniem.

Zarówno opis materiału jak i opis zastosowanych metod wraz z metodami statystycznymi nie budzą zastrzeżeń. Metody są wiarygodne i nowoczesne. Cały rozdział opracowany jest bardzo starannie a opis badań genetycznych zawierający modyfikacje Autora bardzo szczegółowy i bogato ilustrowany.

Wyniki

Opis wyników zajmuje 36 stron. Autor przedstawił je jasno i przejrzysto w tekście oraz w załączonych tabelach (od nr 11 do nr 38) oraz rycinach (od nr 13 do nr 27). Wykazał, że u kobiet po menopauzie częstość badanych polimorfizmów w zasadzie nie odbiegała istotnie od częstości obserwowanej dla mieszanych populacji europejskich, a różnice w odsetku heterozygot dla polimorfizmu rs6454674 mogą wynikać z zawężonego fragmentu badanej populacji kobiet po menopauzie. Być może podobnie należy tłumaczyć różnicę w częstościach heterozygot A/G polimorfizmu rs806381 w porównaniu do populacji szwajcarskiej.

Odpowiadając na pierwszy cel pracy Autor nie znalazł związków między wskaźnikiem masy ciała, tłuszczem całkowitym i odsetkiem tkanki tłuszczowej a genotypami homozygoty dominującej, recesywnej lub heterozygoty dla polimorfizmów rs6454674, rs2023239 i rs806381 genu CB1. Jedynie nosicielki obu zmutowanych alleli polimorfizmu rs1049353 charakteryzowały się zwiększonym odsetkiem tkanki tłuszczowej.

Także w tej grupie badanych kobiet Autor wykazał większy odsetek depozytu anerooidalnego. Kobiety z poszczególnymi genotypami trzech pozostałych polimorfizmów nie różniły się obwodem talii, wskaźnikiem WHR, depozytami anerooidalnym i gynooidalnym wyrażonymi w gramach i wartościach procentowych, a także stosunkiem obu depozytów.

Dyskusja

Omówienie wyników i dyskusja zajmują 13 stron. Ich zaletą, podobnie jak wstępu, jest zwięzłość i uporządkowanie, świadczące o bardzo dobrej znajomości podjętej problematyki, umiejętności posługiwania się narzędziami badawczymi i dostępnym piśmiennictwem. Autor analizuje w nim szczegółowo uzyskane wyniki, zachowując należną ostrożność i krytycyzm w ich ocenie i interpretacji oraz sugeruje kierunek dalszych badań mogących rzucić światło na trudności, które napotykał w ich interpretacji. Cała dyskusja wskazuje na dojrzałość naukową badacza.

Wnioski

Omówienie i dyskusję kończy 5 wniosków. Znajdują one pełne uzasadnienie w poprzedzających częściach pracy, są zgodne z wytyczonymi celami pracy i mają istotny aspekt nie tylko poznawczy, ale w przyszłości także praktyczny, być może związany ze wskazaniami do leczenia antagonistami CB1.

Pracę kończy streszczenie oraz spis piśmiennictwa zawierający 116 pozycji. Streszczenie jest rzeczowe i zawiera najistotniejsze elementy rozprawy. Piśmiennictwo jest starannie dobrane tematycznie, zawiera najnowsze opinie prezentowane w bibliografii medycznej.

Uwagi recenzenta

Podobnie jak we wstępie, Autor nie ustrzegł się pewnych błędów, które nie mają charakteru merytorycznego, ale warto na nie zwrócić uwagę przy przygotowaniu pracy do druku.

Z obowiązku recenzenta wymieniam je w kolejności:

str. 33 - dwa błędy literowe w pierwszym akapicie

str. 35 – błąd literowy w drugim akapicie

str. 99 – błąd literowy w symbolu polimorfizmu rs2023239

str. 102 – w cytowanej pracy Gazzero i wsp. podwójnie zmutowany allel, rs1049353 to G/G (błąd literowy)?

Ponadto:

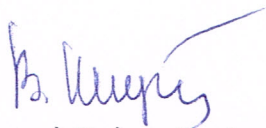
- powtarza się błąd w interpretacji związku homozygot recesywnych rs1049353 z odsetkiem tkanki tłuszczowej (podobnie depozytu anerooidalnego), który sugeruje, że jest to związek z ilością tkanki tłuszczowej
- streszczenie warto uzupełnić o wniosek podsumowujący
- poprawek wymaga bibliografia np. pozycje nr 79, 83, 95, 96, 104.

Chcę wyraźnie zaznaczyć, że wymienione uwagi w żaden sposób nie wpływają na bardzo dobrą ocenę przedstawionej do recenzji rozprawy.

Podsumowując przedstawioną powyżej charakterystykę rozprawy pragnę stwierdzić, że spełnia ona wszystkie wymagania stawiane przed pracami doktorskimi, gdyż stanowi samodzielne, poprawnie i rzetelnie przeprowadzone rozwiązanie jasno określonego problemu badawczego, upoważniające do postawienia konkretnych wniosków, posiadających dużą wartość poznawczą, a w przyszłości także praktyczną.

W oparciu o powyższą ocenę, stawiam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie mgr biologii Maurycego Pawlaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Szczecin, 26.08.2014r.


Prof. dr hab. n. med. Barbara Krzyżanowska-Świniarska