

Dr hab.n.med.

Beata Matyjaszek- Matuszek

Katedra i Klinika Endokrynologii

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ LEK. MED. ALEKSANDRY ZDROJOWY-WELNY

„Polimorfizm genu podatności na otyłość (RS 9939609 *FTO*) w populacji dolnośląskiej oraz jego związek z wybranymi czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych”

Skuteczne leczenie otyłości i jej powikłań wciąż stanowi wyzwanie dla współczesnej medycyny, bowiem określenie przyczyn nadmiernego gromadzenia tkanki tłuszczowej pozostaje nadal nierozwiązane. Masa ciała znajduje się pod ścisłą kontrolą złożonych mechanizmów homeostatycznych, a otyłość jest stanem, w którym ilość energii dostarczonej istotnie przewyższa jej zużycie przez organizm, dając dodatni bilans energetyczny. Jednak dopiero w 2013 r. otyłość została oficjalnie zakwalifikowana przez Amerykańskie Towarzystwo Medyczne jako oddzielna jednostka chorobowa, natomiast WHO w 2000r. podaje dość enigmatyczną definicję otyłości jako „nadmiernej masy ciała, która może upośledzać zdrowie”. Niewątpliwie otyłość jest poważną, przewlekłą i niebezpieczną w skutkach chorobą. W skali świata najwyższy odsetek osób otyłych mieszka w państwach Zatoki Perskiej (Katar, Kuwejt, Zjednoczone Emiraty Arabskie, Bahrajn, Arabia Saudyjska, Oman), gdzie drastyczne zmiany zwyczajów żywieniowych w ostatnich dekadach spowodowały, że aż 36,7 % tamtejszej populacji zmaga się z otyłością. Wskazuje to na istotny udział czynników środowiskowych, jak dieta czy aktywność fizyczna w patogenezie tej patologii. Podobna skala problemu, ze zdecydowaną przewagą kobiet dotyka też Amerykanów (40,0 i 35,7 %), a najgrubszy Europejczycy to Brytyjczycy, Czesi i Słowacy, zaś Polacy zajmują niechlubne 5 miejsce (25,5%). W Polsce największy odsetek osób cierpiących na nadwagę i otyłość, > 50%, wg TGI/MillwardBrown, z grudnia 2015, dotyczy właśnie województwa dolnośląskiego (51,93%), podkarpackiego, świętokrzyskiego, łódzkiego i wielkopolskiego a najmniejszy woj. opolskiego.

W świetle tych wstępnych rozważań, należy pokreślić celowość wyboru tematyki przedstawionej do oceny pracy na stopień doktora nauk medycznych przez lek. med. Aleksandrę Zdrojowy-Welnę prowadzonej pod kierunkiem prof. dr hab. n.med. Grażyny Bednarek-Tupikowskiej i dr hab. n.med. Katarzyny Zatońskiej. Autorka uwagę swoją skoncentrowała na ocenie polimorfizmu genu podatności na otyłość (rs 9939609 *FTO*) w populacji dolnośląskiej oraz jego ewentualnego związku z wybranymi czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.

Wydaje się to być bardzo trafny wybór, bowiem pomimo istotnego udziału znanych, modyfikowalnych czynników środowiskowych, jak dieta czy aktywność fizyczna, to rola czynników genetycznych pozostaje wciąż niejasna.

Praca posiada typowy układ, z podziałem na podrozdziały, jak wstęp, założenia i cel, materiał i metody z opracowaniem statystycznym, wyniki, omówienie wyników badań z dyskusją oraz 4 wnioski końcowe. Praca razem z piśmiennictwem (164 pozycje), streszczeniem w języku polskim i angielskim, wykazem 30 tabel z wynikami, liczy 120 stron. Jest napisana językiem jasnym i zrozumiałym, starannie przygotowana pod względem stylistycznym, interpunkcyjnym oraz graficznym.

We wstępie Doktorantka w sposób dokładny wprowadza nas, zarówno w podstawy teoretyczne, jak i szczegóły kliniczne problemu otyłości i jej powikłań, aby przejść do zdecydowanie trudniejszej części, czyli badań nad genetycznymi podstawami tej patologii. Po wprowadzeniu metody GWAS (Genome-Wide Association Study) ujawniono szereg związków pomiędzy otyłością a ponad 40 genami, a zwłaszcza genem receptora 4 melanokortyny- MC4R czy genem receptora PPAR γ . Dopiero w 2007 roku opisano związek genu *FTO* ze zwiększonym ryzykiem otyłości i jak dotąd jest to związek najsilniejszy, chociaż dokładna funkcja i mechanizm tego wpływu pozostaje niejasny. To właśnie badanie polimorfizmu tego genu (rs 9939609 *FTO*) Doktorantka obrała za cel swojej dysertacji i bardzo dokładnie i zrozumiale przedstawiła zarówno jego funkcję, jak i mechanizm ośrodkowego czy obwodowego działania. W dalszej kolejności, skutecznie przekonując czytającego o słuszności swojego wyboru, przeanalizowała wpływ polimorfizmu genu *FTO* na wzrost ryzyka otyłości w różnych grupach etnicznych i przedstawiła rolę tego polimorfizmu w rozwoju czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych oraz zależności z dietą i wysiłkiem fizycznym. Ta część wstępu oparta

jest o najnowsze pozycje piśmiennictwa, a umiejętność poruszanych zagadnień i swoboda w operowaniu tematem świadczy o bardzo dobrej znajomości przedstawianych problemów i prawidłowym wykorzystaniu źródeł. Jednak wydaje się, że wstęp jest zbyt obszerny i czasami wręcz dominujący dla proporcji całej rozprawy doktorskiej, bo obejmuje aż 36 stron (1/3 części merytorycznej) ze 123 pozycjami piśmiennictwa (164 w całości). Czuję się również w obowiązku zwrócić uwagę na drobne uchybienia redakcyjne, bowiem na stronie 19 zamiast symbolu gamma umieszczony został symbol delty, a na stronie 24, cytując Lopez – Bermejo brak jest odnośnika literaturowego.

Aby odpowiedzieć na wiele poruszanych zagadnień Doktorantka postawiła sobie dwa następujące cele: ocena częstości występowania allelu ryzyka A polimorfizmu rs 9939609 genu *FTO* w populacji dolnośląskiej i określenie istnienia związku pomiędzy allelem ryzyka A polimorfizmu rs 9939609 genu *FTO* a występowaniem otyłości i jej powikłań, jak nadciśnienie tętnicze, zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej, ostre powikłania sercowo-naczyniowe oraz palenie tytoniu i konsumpcja alkoholu.

Rozdział Materiał i Metody Doktorantka przedstawiła z dużą poprawnością metodologiczną. Grupa badana, która była częścią wielośrodkowego, międzynarodowego badania epidemiologicznego PURE, liczyła 1104 pacjentów, ale była zróżnicowana liczebnie w poszczególnych analizach biochemicznych. U każdego pacjenta przeprowadzono wywiad lekarski i środowiskowy zgodnie z protokołem PURE, oznaczono parametry antropometryczne, co pozwoliło na wyliczenie BMI, wskaźnika WHR, zmierzono ciśnienie tętnicze i akcję serca oraz pobrano krew na badania biochemiczne. Badania genetyczne rozpoczęto od wyizolowania genomowego DNA, a następnie za pomocą techniki PCR został powielony specyficzny fragment genu *FTO* zawierający badany polimorfizm. Do amplifikacji użyto zaprojektowanych starterów reakcji, a produkt amplifikacji został oczyszczony za pomocą enzymów restrykcyjnych, po czym przeprowadzono identyfikację badanego polimorfizmu, czyli genotypowanie za pomocą techniki minisekwencjonowania. Grupę podzielono na 3 podgrupy w zależności od obecności przynajmniej jednego allelu ryzyka (A) lub samych alleli ochronnych (T) polimorfizmu rs 9939609 genu *FTO* (grupa AA, grupa AA+AT, grupa TT). Porównywano między sobą grupy, czyli AA vs. TT oraz AA+AT vs. TT pod względem występowania otyłości

i jej powikłań. Oznaczenia genetyczne były finansowane w ramach projektu badawczego dla młodych naukowców Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (nr grantu PBmm158) realizowanego w latach 2013-2016.

Autorka zaprezentowała wyniki swoich badań opisowo oraz w 30 tabelach. Rozdział ten składa się z dwóch części, a każda część podzielona jest dodatkowo na podrozdziały. W pierwszej części Doktorantka przedstawiła charakterystykę grupy badanej, a w drugiej części wyniki badań genetycznych adekwatnie do założonych celów. Ta część rozprawy doktorskiej świadczy o dużym nakładzie pracy opisowej i interpretacyjnej Autorki. Myślę, że aby w pełni uporządkować tak dużą ilość wyników, a także w celu usprawnienia toku czytania, dobrze byłoby dołączyć numery tabel do części opisowej, tzn. ... co przedstawiono w Tab.1

W rozdziale omówienie wyników badań i dyskusja Doktorantka szczegółowo analizuje uzyskane wyniki badań z wynikami i obserwacjami innych autorów, chociaż wydaje się, że jest mało publikacji źródłowych na ten temat. W podsumowaniu przedstawia 9 wniosków w części metabolicznej chociaż, według mnie, są one częściowo powtórzeniem wyników oraz 5 wniosków w części drugiej, genetycznej, które dokładnie konkludują uzyskane wyniki.

Doktorantka wykazała, że uwarunkowania genetyczne, a zwłaszcza badany polimorfizm genu *FTO* jest jednym z czynników, które kształtują ryzyko chorób sercowo-naczyniowych u mieszkańców Dolnego Śląska, a częstość występowania allelu ryzyka A polimorfizmu rs 9939609 genu *FTO* wynosi 0,44 jest porównywalna do częstości innych populacji europejskich. Nosicielstwo tego allelu ryzyka, wydaje się mieć niekorzystny wpływ na profil metaboliczny, głównie poprzez zwiększone ryzyko występowania otyłości, w tym także centralnej, jednak różnice były istotne statystycznie jedynie w grupie mężczyzn. Co warto podkreślić i pionierskie Doktorantka wykazała różnice w tym zakresie dla płci, ponieważ w dotychczasowych pracach nie uwzględniano tego czynnika. Jest to nowa, interesująca obserwacja i może stanowić podłoże dalszej analizy. Jednak w tym kontekście wydaje się, że 2 wnioski pracy wymaga preredagowania. Natomiast Doktorantka nie dowiodła związku pomiędzy badanym polimorfizmem a występowaniem powikłań sercowo-naczyniowych, paleniem papierosów czy spożywaniem alkoholu oraz stopniem aktywności fizycznej i stosowaniem używek.

Moje drobne uwagi to tylko rady w zakresie przygotowania i redakcji pracy do druku i w żaden sposób nie obniżają wartości merytorycznej tej rozprawy.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że lek. med. Aleksandra Zdrojowy-Wełna w swojej pracy doktorskiej podjęła się analizy bardzo interesującego i ważnego społecznie i klinicznie problemu, jakim jest genetyczne podłoże otyłości wraz z jej powikłaniami. W pełni zrealizowała postawione wstępnie cele. Zastosowała w pracy nowoczesne metody badawcze, poprawnie przeanalizowała uzyskane wyniki i sformułowała adekwatne do celów wnioski.

Zatem stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani lek. med. Aleksandry Zdrojowy-Wełny spełnia wszystkie wymogi ustawowe stawiane pracy doktorskiej i wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie Pani lek. med. Aleksandry Zdrojowy-Wełny do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med.
Beata Matyjaszek-Matuszek
specjalista chorób wewnętrznych
Endokrynolog-Diabetolog
1734198