

Uniwersytet Rzeszowski
Al. Rejtana 16 C, 35-959 Rzeszów



Zakład Genetyki
Samodzielna Katedra Medycyny
Molekularnej
Wydział Medyczny
Uniwersytet Rzeszowski

Dr hab. n. med. Izabela Zawlik, prof. UR
Kierownik Zakładu Genetyki i
Samodzielnej Katedry Medycyny Molekularnej
Wydział Medyczny
Uniwersytet Rzeszowski

Rzeszów, 30.04.2016

**Recenzja rozprawy doktorskiej lekarz medycyny Joanny Wójcik-Odyniec pt.:
„Modyfikowalne oraz niemodyfikowalne czynniki wpływające na przedwczesną
chorobę niedokrwienną serca u pacjentów z cukrzycą typu 2”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani lekarz medycyny Joanny Wójcik-Odyniec została przygotowana pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. n. med. Jerzego Loby w Klinice Chorób Wewnętrznych i Diabetologii, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Praca doktorska dotyczy badań nad identyfikacją modyfikowalnych i niemodyfikowalnych czynników ryzyka wczesnego wystąpienia choroby niedokrwiennej serca (ChNS) u pacjentów z cukrzycą typu 2. W pracy analizowano wpływ klasycznych czynników ryzyka chorób naczyniowych oraz wybranych na podstawie najnowszej literatury polimorfizmów pojedynczego nukleotydu warunkujących występowanie ChNS. Grupę badaną stanowiło 338 chorych z rozpoznaną cukrzycą typu 2 i chorobą niedokrwienną serca z podziałem na dwie grupy: z wczesnym i późnym początkiem ChNS. Dane epidemiologiczne i kliniczne zostały zebrane od chorych w formie ankiety, wypełnianej w oparciu o retrospektywny wywiad oraz przedstawioną przez chorego dokumentację medyczną, a także na podstawie badania fizykalnego. Analizę czterech polimorfizmów genetycznych w *loci* 9p21 (rs2383206 i rs1333049), 1p13 (rs599839) oraz 1q25 (rs10911021) przeprowadzono z wykorzystaniem metody Real-Time PCR. Temat podjęty w pracy doktorskiej ma ogromne znaczenie w określeniu czynników ryzyka wczesnego rozwoju ChNS w indywidualnym przypadku cukrzycy typu 2, co może

stanowić podstawę do podjęcia odpowiednich działań terapeutycznych i profilaktycznych w celu ograniczenia odległych i nieodwracalnych skutków chorób naczyniowych. Tak kompleksowe badania nie były do tej pory przeprowadzane w populacji polskich chorych.

Praca doktorska została wydana w formie oprawionego maszynopisu liczącego 122 strony. Praca ma typowy układ stosowany w rozprawach doktorskich z podziałem na rozdziały: wstęp, założenia i cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, uwagi końcowe, wnioski, piśmiennictwo, tabele i wykresy oraz streszczenie (w języku polskim i angielskim). Praca zawiera 1 rycinę, 15 tabel (w tym wzór ankiety, rozkład danych epidemiologicznych i cech klinicznych, charakterystykę antropometryczną, podstawowe dane biochemiczne oraz rozkład genotypów w badanych grupach) i 4 wykresy obrazujące uzyskane wyniki. Piśmiennictwo obejmuje 149 pozycji literaturowych pochodzących głównie z ostatnich kilku lat z dominacją literatury anglojęzycznej. Dodatkowo do pracy dołączono zgodę odpowiedniej Komisji Bioetycznej. W tym miejscu należy zauważyć, że w Spisie treści pracy nie zostały zamieszczone numery stron początkowych wymienionych rozdziałów i podrozdziałów. Numeracja taka znacznie ułatwiłaby czytanie i ocenę pracy doktorskiej. W pracy występują również drobne błędy edytorskie polegające na braku właściwego odniesienia do piśmiennictwa na stronie 64 czy braku pełnego tytułu w pozycji literaturowej numer 96 na stronie 89. Jednakże, błędy te nie zmniejszają wysokiego poziomu merytorycznego przedstawionej do oceny pracy doktorskiej.

Cała rozprawa doktorska napisana jest w zwięzłym i syntetycznym stylu. Wstęp pracy jest podzielony na trzy podrozdziały. W pierwszym podrozdziale przedstawiono szczegółowy opis dotyczący rozpowszechnienia, etiopatogenezy, czynników ryzyka, powikłań, leczenia i profilaktyki cukrzycy. W drugim podrozdziale Wstępu przedstawiono szczegółowy opis etiopatogenezy, czynników ryzyka i postaci klinicznych ChNS. W trzecim podrozdziale Wstępu przedstawiono rolę czynników genetycznych i badań genetycznych w ocenie ryzyka rozwoju ChNS, ze szczególnym uwzględnieniem polimorfizmów w *loci* 9p21, 1p13 i 1q25. Wstęp stanowi dokładną analizę aktualnego stanu wiedzy na temat podjętego problemu badawczego uzasadniając celowość podjętych badań. Założenia i cele podjętych badań zostały jasno sformułowane. W pracy założono, że istnieją różnice w częstotliwości występowania modyfikowalnych oraz niemodyfikowalnych czynników ryzyka ChNS

ze szczególnym uwzględnieniem badanych polimorfizmów pomiędzy grupami pacjentów z wczesnym i późnym początkiem ChNS w ogólnej populacji chorych na cukrzycę typu 2. Cele pracy zostały precyzyjnie przedstawione w czterech punktach i poprawność ich sformułowania nie budzi wątpliwości. Ogólnym celem pracy była analiza związku pomiędzy obecnością modyfikowanych oraz niemodyfikowalnych czynników ryzyka rozwoju zmian miażdżycowych (ze szczególnym uwzględnieniem wymieniony wyżej polimorfizmów) a wczesnym początkiem występowania ChNS w polskiej populacji chorych z cukrzycą typu 2.

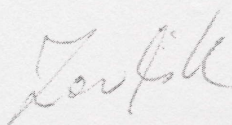
W rozdziale „Materiał i Metody” opisano sposób podziału pacjentów, sposób pozyskiwania danych epidemiologicznych i klinicznych, sposób pobierania próbek biologicznych i izolacji materiału genetycznego, metodę genotypowania wybranych polimorfizmów oraz metody analizy statystycznej uzyskanych wyników. Wszystkie powyżej wymienione etapy badawcze zostały prawidłowo zaprojektowane i zrealizowane w kontekście spełnienia założonych celów pracy doktorskiej. Dane i materiał biologiczny wykorzystywane w pracy pozyskiwano w okresie od września 2011 r. do września 2013 r. Kryterium włączenia do poszczególnych podgrup było kryterium wieku wystąpienia ChNS, różne dla obu płci. Grupę badaną stanowiło 180 pacjentów z wczesnym początkiem ChNS tzn. w wieku <55 r.ż. dla mężczyzn i <65 r.ż. dla kobiet, natomiast grupę kontrolną stanowiło 158 pacjentów z późnym początkiem ChNS tzn. w wieku ≥ 55 r.ż. dla mężczyzn i ≥ 65 r.ż. dla kobiet. Dane epidemiologiczne i biochemiczne zostały uzyskane na podstawie ujednoliconej ankiety oraz analizy dokumentacji medycznej. W trakcie badania fizykalnego dokonano pomiarów antropometrycznych a także pobrano próbkę krwi w celu izolacji DNA do badań genetycznych. Analizy wybranych polimorfizmów genetycznych (rs2383206, rs1333049, rs10911021, rs599839) przeprowadzono z wykorzystaniem metody Real-Time PCR z zastosowaniem TaqMan SNP Genotyping Assay. Jedyne zastrzeżenie budzi w tym miejscu niekompletny opis metody genotypowania; nie podano profilu termicznego reakcji oraz stężeń składników mieszaniny reakcyjnej. Zastosowane metody analizy statystycznej są adekwatne dla rozwiązania problemów badawczych.

Uzyskane wyniki zostały zaprezentowane w uporządkowany sposób, a właściwie dobrane tabele ułatwiają analizę wyników. Do najważniejszych uzyskanych wyników należy wykazanie w badanej grupie pacjentów z wczesnym początkiem

ChNS znamienne częstszego nosicielstwa alleli ryzyka w obrębie obu badanych polimorfizmów w regionie 9p21, szczególnie u osób z relatywnie niskim BMI. Dodatkowo w pracy potwierdzono, że predyspozycje genetyczne mają istotny wpływ na wczesny rozwój ChNS. Natomiast wśród analizowanych klasycznych czynników ryzyka chorób naczyniowych jedynie bardzo wysokie wartości BMI oraz niski poziom cholesterolu HDL miały istotny statystycznie wpływ na wcześniejsze ujawnianie ChNS w badanej grupie. Dyskusja jest napisana w sposób rzeczowy, wnikliwy i krytyczny. Dyskusja została podzielona na kilka części koncentrujących się na kolejnych analizowanych problemach badawczych. Wyniki uzyskane w ramach realizacji pracy doktorskiej zostały skonfrontowane z najnowszymi wynikami opublikowanych badań o podobnej tematyce. Dyskusja w pełni ukazuje bardzo dobre zorientowanie lekarza medycyny Joanny Wójcik-Odyniec w aktualnej literaturze dotyczącej wpływu klasycznych czynników ryzyka chorób naczyniowych oraz opisanych w ostatnich latach genetycznych polimorfizmów warunkujących wczesne występowanie ChNS. W Dyskusji wskazano również ograniczenia zastosowanych metod badawczych, co świadczy o dobrym przygotowaniu merytorycznym Autorki rozprawy doktorskiej. Na szczególną uwagę zasługuje rozdział „Uwagi końcowe”, w którym podsumowano uzyskane wyniki w kontekście aktualnego stanu wiedzy oraz wskazano korzyści wynikające z zastosowania diagnostyki uwzględniającej wybrane polimorfizmy potencjalnie związane ze zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób naczyniowych. W rozdziale tym słusznie wskazano, że badania takie mogą pozwolić na wdrożenie działań prewencyjnych lub leczniczych w zagrożonej grupie chorych. Wnioski zostały prawidłowo sformułowane w oparciu o omówione wyniki i nie budzą żadnych zastrzeżeń.

Podsumowując, wysoko oceniam wartość naukową przedstawionej pracy doktorskiej, a drobne błędy edytorskie i uwagi przedstawione w recenzji nie umniejszają mojej wysokiej oceny tej pracy. Niniejsza praca doktorska wskazuje na bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Autorki oraz opanowanie przez nią warsztatu badawczego i umiejętności krytycznej analizy uzyskanych wyników. Przedstawiona do oceny praca doktorska pt.: „Modyfikowalne oraz niemodyfikowalne czynniki wpływające na przedwczesną chorobę niedokrwinną serca u pacjentów z cukrzycą typu 2” w pełni spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim dlatego wnoszę do Rady Wydziału o dopuszczenie Pani lekarza medycyny

Joanny Wójcik-Odyniec do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, z uwagi na wysoką wartość poznawczą prowadzonych badań pragnę przedłożyć Wysockiej Radzie wniosek o wyróżnienie niniejszej pracy doktorskiej.



Dr hab. n. med. Izabela Zawlik, prof. UR