

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Anny Kadłubiskiej, pt.

„Analiza wybranych polimorfizmów genów rs2476601 A/G- PTPN22, rs20541 A/G- IL13, rs29941 A/G- KCTD15 w patogenezie cukrzycy typu 1 u dzieci”



RPL/7993/2023
Data: 2023-09-12
UMB

Cukrzyca typu 1 (T1DM) jest ciężką przewlekłą chorobą o podłożu autoimmunizacyjnym. Wiek zachorowania dzieci stale ulega obniżeniu. Lawinowo niemal narasta również częstość zachorowań. Schorzenie to staje się poważnym problemem klinicznym oraz społecznym w populacji dziecięcej. Wielu naukowców stara się poszerzyć naszą wiedzę na temat wpływu czynników genetycznych na predyspozycję do zachorowania na T1DM. Praca lek. Anny Kadłubiskiej również dotyczy związku wybranych polimorfizmów z predyspozycją do rozwoju cukrzycy typu 1.

Wybrane przez Autorkę dysertacji polimorfizmy wykazują działanie na układ immunologiczny człowieka. Polimorfizm rs 2476601A/G PTPN22, poprzez białkową fosfatazę tyrozynową, jest ważnym regulatorem odpowiedzi immunologicznej. Polimorfizm rs 20541 A/G IL-13 odpowiada za kodowanie cytokiny IL-13 produkowanej między innymi przez pomocnicze limfocyty T (Th2), eozynofile, bazofile, mastocyty oraz komórki NK. Polimorfizm rs29941 KCTD15 modyfikuje działanie kanałów potasowych zlokalizowanych na granulocytach, monocytach oraz limfocytach.

Praca posiada klasyczny układ. Obejmuje 112 stron wydruku elektronicznego, podzielonych na rozdziały i podrozdziały, w tym 5 rycin i 20 tabel.

Pracę poprzedza dokładnie przedstawiony spis treści. Odszukanie poszczególnych rozdziałów i podrozdziałów nie stanowi zatem większego problemu.

Zapoznanie się z pracą ułatwia również zamieszczony, w części końcowej pracy, wykaz tabel i rycin. Pracę poprzedza także wykaz skrótów użytych w pracy. Syntetycznie przedstawione streszczenia, na 6 stronach w języku polskim oraz na 6 stronach w języku angielskim, umożliwiają zapoznanie się z zasadniczymi elementami dysertacji.

Piśmiennictwo obejmuje 120, w zdecydowanej większości najnowszych, także w zdecydowanej większości anglojęzycznych, w sposób odpowiedni cytowanych, pozycji.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (nr uchwały R-I-002/3/2019)

We wstępie, obejmującym 24 stron, podzielonym na podrozdziały, Autorka przedstawia epidemiologię cukrzycy typu 1 na świecie i w Polsce.

Doktorantka omawia patomechanizm choroby, ze szczególnym uwzględnieniem roli układu immunologicznego w rozwoju cukrzycy typu 1. Konkluduje, iż proces autoimmunizacji w cukrzycy typu 1 nadal nie jest w pełni poznany. Rozpoczęcie oraz rozwój nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej w organizmie i w konsekwencji uszkodzenie tkanek i narządów, poprzez ciągły stan zapalny jest procesem złożonym. Lepsze poznanie mechanizmów immunologicznych może zatem przyczynić się do znalezienia odpowiedniego leczenia lub spowolnienia rozwoju choroby. Niezwykle ciekawą część tego rozdziału stanowi opis roli ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA) oraz czynników epigenetycznych w patogenezie cukrzycy typu 1. Polimorfizmy genów analizowanych w przedstawionej do recenzji pracy wywierają różny wpływ na mechanizmy immunologiczne biorące udział w patogenezie cukrzycy typu 1. Większość z nich nie jest nadal w pełni poznana.

Rozdział ten, wsparty nowoczesnym, odpowiednio dobranym, piśmiennictwem stanowi bardzo dobre wprowadzenie w tematykę podjętych badań. Stanowi również przekonujący dowód, iż autorka rozprawy jest dobrze przygotowana do podjętych badań. **Z obowiązku recenzenta pragnę tylko zwrócić uwagę, że wartości liczbowe, dziesiętne i setne, przytaczane w tym rozdziale zarówno w tekście jak i w tabelach powinny być wyrażone z użyciem przecinka a nie kropki.**

Założone w pracy cele są sformułowane w sposób precyzyjny.

Do badania włączono 183 pacjentów, 82 dziewczynki (44.8%) / 101 chłopców (54.6%), z rozpoznaną cukrzycą typu 1 na podstawie wytycznych Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. Pod uwagę wzięto wywiad, charakterystyczne objawy kliniczne, współistniejącą hiperglikemię ≥ 200 mg/dl oraz dodatnie miano przynajmniej jednej grupy przeciwciał przeciwtrzustkowych (ICA, IA2, GAD, ZnT8, IAA).

Zwraca uwagę fakt, że grupa badana i kontrolna różnią się pod względem średniego wieku i BMI. Różnica średniego wieku pomiędzy grupą badaną a kontrolną w zakresie analizy polimorfizmów genów raczej nie ma znaczenia. BMI jednak może mieć, ponieważ stanowiło podstawę rozdziału grupy badanej do 4 podgrup.

BMI dzieci w grupie badanej jest znacznie niższe (nie widzę w tabeli 3 istotności statystycznej poszczególnych parametrów), niż w grupie badanej. Jest to zrozumiałe i wynika z faktu, iż jednym z wiodących objawów cukrzycy typu 1 jest utrata masy ciała. Chciałbym prosić Doktorantkę o odpowiedź na pytanie: w której średnio dobie po przyjęciu mierzone było BMI? Jest to o tyle ważne, że na tej podstawie dzieci zostały podzielone na grupy z niedowagą, prawidłową i nadmierną masą ciała (nadwagą i otyłością).

Jednym z parametrów wykorzystanych przez Doktorantkę do obliczeń było również zapotrzebowanie na insulinę. Jest to parametr zmienny i zależny od stanu klinicznego dziecka podczas przyjęcia. Znaczny odsetek dzieci szybko obniża zapotrzebowanie na insulinę, często

już podczas pierwszej hospitalizacji. Podobnie zatem, dobrze byłoby uściślić w której średnio dobie hospitalizacji ten parametr był wyliczany?

Na uznanie zasługują bardzo szczegółowo i przejrzysto pisane kryteria włączenia i wyłączenia z projektu.

Doktorantka uzyskała szereg interesujących wyników, dotyczących poszczególnych polimorfizmów:

rs29941 KCTD15

Autorka wykazała 2.39 razy częstsze występowanie allelu A rs29941 genu KCTD15 u pacjentów z cukrzycą typu 1 względem grupy kontrolnej niż przy obecności allelu G. Stwierdzono, iż wraz ze zwiększeniem się liczby alleli G rs29941 KCTD15, zarówno dla genotypu A/G vs. genotypu A/A oraz G/G vs. A/A, maleje ryzyko wystąpienia T1DM. W grupie dziewczynek z genotypem G/G rs29941 KCTD15 oraz w grupie chłopców z genotypem G/G rs29941 KCTD15 stwierdzono rzadsze występowanie cukrzycy typu 1. Nie stwierdziła istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów A/A, A/G, G/G polimorfizmu rs29941 genu KCTD 15 z uwagi na płeć w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1. Dziewczynki z genotypem A/A rs 29941 genu KCTD charakteryzowały się niższym średnim wiekiem w momencie rozpoznania T1DM (8.04 lat) w porównaniu do genotypu A/G (10.72 lat). Nie stwierdzono różnic pomiędzy średnimi wartościami BMI oraz wartościami HbA1c w momencie zachorowania na T1DM, a występowaniem poszczególnych alleli rs29941 genu KCTD15. U dziewcząt z polimorfizmem rs 29941 w przypadku obecności allelu A stwierdzono istotnie większy odsetek pozytywnych przeciwciał ICA (>50%). W grupie chłopców z T1DM z polimorfizmem rs29941 KCTD15 wykazano, iż allel G częściej występuje w grupie pacjentów posiadających dodatnie przeciwciała ICA, niż w grupie z ujemnymi przeciwciałami. Wykazano iż, w przypadku polimorfizmu rs29941 KCTD15 wraz ze wzrostem liczby alleli G wzrasta szansa pojawienia się przeciwciała ICA u płci męskiej.

rs20541 IL-13

Pacjenci z polimorfizmem rs20541 genu IL-13 z allelem G mieli większe średnie dobowe dawki insuliny (j. insuliny/kg masy ciała/dobę) niż pacjenci z allelem A, odpowiednio 0.84 j./kg masy ciała/dobę vs. 0.66j./kg masy ciała/dobę. Chłopcy z genotypem G/G rs20541 byli średnio o 3 lata młodszy w momencie rozpoznania T1DM w porównaniu do osób z genotypem A/A rs20541, odpowiednio 10.47 lat vs. 13.24 lat. W przypadku obecności allelu G rs20541 w grupie dziewczynek stwierdzono istotnie większy odsetek (>50%) pozytywnych przeciwciał ICA oraz ZnT8 niż w przypadku obecności allelu A.

Stwierdzono, iż wraz z pojawieniem się allelu A rs2476601 genu PTPN22 ryzyko rozwinięcia cukrzycy typu 1 stanowi 1.93 x ryzyka zachorowania przy obecności allelu G. U dziewcząt wraz z wystąpieniem allelu A rs2476601 ryzyko zachorowania stanowi 2.23 ryzyka zachorowania przy obecności allelu G. W zestawieniu poszczególnych genotypów rs2476601 genu PTPN22 w grupie dziewczynek, wykazano istotną statystycznie różnicę w średnim wieku zachorowania u osób z genotypem A/A wynoszącym średnio 6.5 roku vs. genotypem G/G wynoszącym średnio 10.3 lat. Porównując średnie BMI w momencie rozpoznania cukrzycy typu 1, wykazano, iż genotyp AA rs 2476601 PTPN 22 charakteryzował się wyższym średnim BMI w grupie chłopców niż genotyp GG, odpowiednio 25.6 kg/m² vs. 19.41 kg/m². Stwierdzono istotnie większy odsetek dodatnich przeciwciał (>50%) ICA w grupie dziewczynek z T1DM z allelem G. Natomiast w grupie chłopców wykazano, iż wraz z pojawieniem się allelu A rs 24766012 PTPN 22 wzrasta prawdopodobieństwo wystąpienia przeciwciał ICA.

W mojej ocenie wyniki uzyskane przez Doktorantkę są tak istotne, iż można pominąć jako parametr BMI u dzieci w grupie badanej z przyczyn przytoczonych w uwagach dotyczących metodologii badania.

Na podstawie przeprowadzonych wyników Doktorantka sformułowała 10 wniosków:

Wszystkie trzy badane polimorfizmy, rs2476601, rs29941, rs20541, wskazują na ich udział w patogenezie cukrzycy typu 1: Polimorfizm rs 2476601 genu PTPN 22 bierze udział w patogenezie cukrzycy typu 1 u dzieci. Allel A rs 2476601 wykazuje działanie predysponujące do zachorowania na T1DM, predyspozycja szczególnie jest wyrażona u płci żeńskiej. Natomiast allel G rs 2476601 genu PTPN 22 wykazuje działanie ochronne.

1. Polimorfizm rs29941 KCTD 15 ma udział w patogenezie cukrzycy typu 1. Allel G wykazuje działanie ochronne przed rozwojem cukrzycy typu 1. Zależność zaznaczona zarówno w rozkładzie alleli oraz genotypów, bez różnic w zależności od płci.

2. W grupie dzieci z T1DM wykazano istotnie częstsze występowanie allelu A polimorfizmu rs20541 genu Interleukiny-13, w porównaniu do grupy osób zdrowych.

3. W grupie dziewczynek z T1DM z genotypem A/A rs 2476601 obserwuje się istotnie niższy średni wiek zachorowania w porównaniu do genotypu G/G 6.5 vs. 10.3 lat.

4. W grupie chłopców z T1DM z genotypem G/G rs 20541 IL-13 obserwuje się znamienne niższy średni wiek zachorowania na T1DM, o 3 lata, w porównaniu do genotypu A/A rs 20541, odpowiednio 10.47 vs. 13.24 lat.

5. Dziewczynki z polimorfizmem rs 29941 z genotypem A/A zachorowały o ponad 2 lata wcześniej na T1DM w porównaniu do genotypu A/G.

6. Prawdopodobieństwo wystąpienia przeciwciał ICA jest większe w przypadku płci męskiej z polimorfizmem rs2476601 wraz z pojawieniem się allelu A, podobnie w przypadku płci żeńskiej z polimorfizmem rs2476601 z allelem G oraz w przypadku polimorfizmu rs20541 z allelem G.

7. rs20541 z allelem G koreluje z częstszym występowaniem przeciwciał ZnT8 niż w grupie z allelem A.

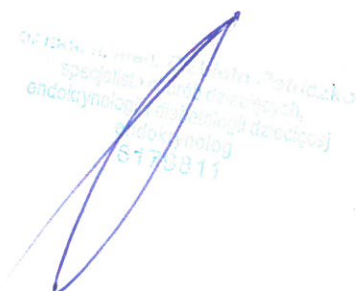
8. Korelacje polimorfizmów rs2476601, rs20541 oraz 29941 z odchyleniem standardowym BMI, wykazały, iż genotyp A/A rs2476601 PTPN22 charakteryzował się istotnie wyższym średnim BMI w grupie chłopców w porównaniu do genotypu GG. Stwierdzono, iż ze zwiększeniem się liczby alleli G zmniejsza się ryzyko wystąpienia otyłości w porównaniu do allelu A.

9. Nie obserwuje się istotnych statystycznie różnic w stężeniu hemoglobiny glikowanej w momencie rozpoznania u pacjentów z T1DM w zależności od poszczególnych alleli badanych polimorfizmów.

Wniosek 2,3,7,9 w mojej ocenie jest raczej opisem wyników a nie konkluzją.

Poczynione przeze mnie uwagi, dotyczące metodologii i wniosków końcowych dysertacji w żadnym stopniu nie umniejszają wartości pracy. Doktorantka wykazała dużą wiedzę, w tym obszernym, nowocześnie ujętym i przejrzystym przedstawionym opracowaniu. Praca jest napisana piękną polszczyzną i zawiera jedynie pojedyncze błędy literowe. Na uznanie zasługuje sposób prezentacji danych i szata graficzna dysertacji.

Reasumując uważam, że oceniana przeze mnie praca, pt. „Analiza wybranych polimorfizmów genów rs2476601 A/G- PTPN22, rs20541 A/G- IL13, rs29941 A/G- KCTD15 w patogenezie cukrzycy typu 1 u dzieci”, spełnia warunki określone w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. Z 2017 r., poz 1789). W związku z powyższym przedkładam Senat Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, wniosek o dopuszczenie lek. Anny Kadłubiskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na nowatorski charakter badań Doktorantki wnioskuję również o wyróżnienie jej pracy.



Dr hab. n. med.
specjalista chorób wewnętrznych,
endokrynolog, diabetolog i dietetyk
Kadłubiska Anna
6730811

