

Dr hab. n. med. Joanna Nazim
Klinika Endokrynologii Dzieci i Młodzieży Katedry Pediatrii
Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Kraków 27.09.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej

lekarza medycyny Anny Kadłubiskiej p.t. „Analiza wybranych polimorfizmów genów rs2476601 A/G-PTPN22, rs20541 A/G-IL13, rs29941 A/G-KCTD15 w patogenezie cukrzycy typu 1 u dzieci” wykonanej w Klinice Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem prof. dr hab. med. Artura Bossowskiego.

Dane epidemiologiczne potwierdzają stały wzrost zapadalności na cukrzycę typu 1 na świecie i w Polsce. Znaczący wzrost współczynnika zapadalności dotyczy szczególnie młodszych grup wiekowych populacji pediatrycznej. Wiadomo, że patogeniza cukrzycy typu 1 jest wieloczynnikowa ale nadal nie potrafimy w pełni zdefiniować czynników inicjujących proces autoagresji w wyspach trzustkowych ani zatrzymać progresji autodestrukcji komórek beta. Udowodniono istnienie predyspozycji genetycznej do zachorowania na cukrzycę typu 1. Ma ona charakter wielogenowy. W ponad 50% podatność tą kształtują określone genotypy w układzie HLA. Potwierdzono także wpływ wielu innych genów spoza układu HLA z genem insuliny, CTLA-4 a także PTPN22 na czele. Podjęte przez Doktorantkę badania wybranych polimorfizmów genów regulujących odpowiedź immunologiczną w populacji dzieci z cukrzycą typu 1 są jak najbardziej uzasadnione.

Przedstawiona do recenzji praca liczy 112 stron tekstu, zilustrowanego 5 rycinami oraz uzupełnionego 20 tabelami i 12 wykresami. Podzielona jest na 7 rozdziałów, na które składa się: wstęp oparty na przeglądzie literatury, sprecyzowanie celów badawczych, charakterystyka grupy badanej i stosowanych metod badawczych, prezentacja wyników, dyskusja oraz wnioski. Całość rozprawy uzupełnia streszczenie pracy w języku polskim i angielskim, lista 120 pozycji piśmiennictwa, spis rycin, tabel, wykresów oraz wykaz stosowanych skrótów. Praca została przygotowana bardzo starannie, w sposób przejrzysty i dobrze zaplanowany.

We wprowadzeniu liczącym 33 strony Doktorantka przedstawiła informacje na temat klasyfikacji cukrzycy i kryteriów rozpoznania cukrzycy typu 1, omówiła epidemiologię cukrzycy typu 1 na świecie i w Polsce, jej patogenezę, w szczególności rolę czynników genetycznych, w tym obecny stan wiedzy na temat związku polimorfizmów genów PTPN 22, IL13 i KCTD 15 w patogenezie cukrzycy typu 1. Sposób przedstawienia zagadnień we wprowadzeniu do rozprawy świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do pracy badawczej oraz o znajomości podjętej tematyki.

W kolejnej części rozprawy Autorka sformułowała główny cel pracy, którym było określenie związków wybranych polimorfizmów genów PTPN 22 (gen kodujący niereceptorową białkową fosfatazę tyrozynową 22), IL-13 i KCTD 15 (gen domeny kanału potasowego) z występowaniem cukrzycy typu 1. Dodatkowo, autorka postanowiła ustalić czy istnieje związek pomiędzy wymienionymi polimorfizmami a wiekiem rozpoznania cukrzycy, obecnością przeciwciał p/wyspowych i wybranymi parametrami antropometrycznymi oraz odsetkiem HbA1c w momencie rozpoznania choroby.

Następnie doktorantka opisała badaną grupę i zastosowane metody oraz analizę statystyczną. Badaniem objęto 183 dzieci w średnim wieku 10.3 ± 3.9 lat (44.8% dziewcząt). Grupę kontrolną stanowiło 160 zdrowych osób w wieku 16.3 ± 3 lata niespokrewnionych z dziećmi z cukrzycą typu 1. U wszystkich badanych za pomocą sond molekularnych określono polimorfizmy w/w genów w genomowym DNA wyizolowanym z leukocytów krwi obwodowej. Doktorantka szczegółowo scharakteryzowała metody zastosowanych badań laboratoryjnych oraz analizy statystycznej. Nie jest dla mnie jasne z tekstu jaką metodą badano przeciwciała IA-2 i ZnT-8, najpewniej metodą ELISA. Ponadto Autorka wymienia wśród analizowanych parametrów antropometrycznych - standaryzowany wskaźnik masy ciała (BMI-SDS), podczas gdy w wynikach badań pojawiają się też porównania wartości bezwzględnych BMI (tabela 3, 6). W przypadku badań porównawczych dotyczących osób w wieku rozwojowym u których rozkład centylowy BMI zmienia się z wiekiem właściwym jest używanie BMI-SDS.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

W rozdziale poświęconym wynikom badań Doktorantka przedstawiła rezultaty dokonanych analiz. Wykazała 2.4 razy częstsze występowanie allelu A niż allelu G polimorfizmu rs29941 genu KCTD15 u dzieci z cukrzycą typu 1 w porównaniu do grupy kontrolnej. Wraz ze zwiększaniem się liczby alleli G malało ryzyko rozwoju cukrzycy typu 1. Zarówno u chłopców jak i dziewcząt ze genotypem G/G stwierdzono rzadsze występowanie

cukrzyca typu 1. Nie stwierdzono różnic w rozkładzie genotypów zależnych od płci, nie wykazano również zależności pomiędzy występowaniem alleli A i G a wiekiem zachorowania na cukrzycę, wartościami BMI i HbA1c w momencie rozpoznania cukrzyca. Obecność allelu A wiązała się z większym odsetkiem dodatnich przeciwciał ICA u dziewcząt, natomiast u chłopców szansa na pojawienie się przeciwciał ICA zwiększała się wraz ze wzrostem liczby alleli G. Polimorfizm rs29941 genu KCTD 15 był dotąd badany w kontekście predyspozycji do otyłości i cukrzyca t.2, stąd próba oceny przez Doktorantkę znaczenia tego polimorfizmu w kształtowaniu podatności na rozwój cukrzyca typu 1 u dzieci ma charakter nowatorski.

Doktorantka wykazała również istotnie częstsze występowania allelu A polimorfizmu rs20541 genu IL-13 w porównaniu do osób zdrowych. Nosiciele allelu G wymagali istotnie większych dobowych dawek insuliny. Chłopcy z genotypem G/G byli średnio 3 lata młodsi w momencie rozpoznania cukrzyca w porównaniu do pacjentów genotypem A/A. Z kolei w grupie dziewczynek obecność allelu G wiązała się z istotnie większym odsetkiem dodatnich przeciwciał ICA i ZnT-8.

Podobnie obecność allelu A polimorfizmu rs2476601 genu PTPN 22 predysponuje wg Autorki do rozwoju cukrzyca typu 1, szczególnie u płci żeńskiej gdzie ryzyko zachorowania było 2.23 razy większe w porównaniu z obecnością allelu G. U dziewczynek z genotypem A/A wiek zachorowania był istotnie młodszy (6.5 vs 10.3 lat) w porównaniu z nosicielkami genotypu G/G. Genotypowi A/A u chłopców towarzyszył istotnie większy BMI w momencie rozpoznania cukrzyca w porównaniu do genotypu GG. Wraz ze zwiększaniem się liczby alleli G zmniejszało się ryzyko wystąpienia otyłości. Przeciwciała ICA występowały znamienne częściej u dziewcząt z allelem G i chłopców z allelem A.

Autorka nie wykazała istotnych różnic odsetka HbA1c w momencie rozpoznania cukrzyca zależnych od poszczególnych alleli badanych polimorfizmów.

Badania Doktorantki wskazują więc na udział opisanych polimorfizmów genów PTPN 22, IL-13 i KCTD 15 w patogenezie cukrzyca typu 1 i wpisują się w nurt badań poświęconych pełnemu wyjaśnieniu predyspozycji genetycznej do rozwoju cukrzyca typu 1. Dla potwierdzenia wniosków warto by kontynuować badania zwiększając liczebność grup.

W dyskusji Doktorantka szeroko i szczegółowo omówiła wyniki badań własnych porównując je do opublikowanych w piśmiennictwie. Autorka starannie dobrała literaturę, która obejmuje zarówno prace polskie jak i anglojęzyczne. Połowa prac pochodzi z ostatnich dziesięciu lat. Wyjaśniając uzyskane wyniki badań Doktorantka wykazała się umiejętnością wnioskowania i krytycznej interpretacji cytowanej literatury. Sposób omówienia wyników w dyskusji świadczy o umiejętności samodzielnego rozwiązywania problemów naukowych oraz

krytycznego spojrzenia na wyniki własnych badań i skonfrontowania ich z doniesieniami piśmiennictwa.

Autorka kończy pracę formułując 10 wniosków podsumowujących uzyskane wyniki.

W opracowaniu Doktorantka popełniła drobne błędy literowe i stylistyczne. Kilukrotnie użyła sformułowania przeciwciała przeciwcukrzycowe zamiast przeciwwypowe. W tekście pojawił się też błąd numeracji tabel na str. 43. Te drobne błędy nie umniejszają jednak wartości pracy.

W mojej opinii jako recenzenta, omawiana rozprawa spełnia warunki wynikające z odpowiednich przepisów dotyczących wymagań stawianych rozprawom doktorskim. Na tej podstawie przedkładam Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej lek. med. **Anny Kadłubiskiej p.t. „Analiza wybranych polimorfizmów genów rs2476601 A/G-PTPN22, rs20541 A/G-IL13, rs29941 A/G-KCTD15 w patogenezie cukrzycy typu 1 u dzieci”** i dopuszczenie Kandydatki do kolejnych etapów przewodu doktorskiego .

dr hab. n. med. Joanna Nazim
Specjalista pediatria
Specjalista endokrynolog
Specjalista endokrynolog i diabetolog dziecięcy
lekarz RWZ 4067475

