

Bydgoszcz, 2 listopada 2022 r.

KATEDRA I KLINIKA ENDOKRYNOLOGII
I DIABETOLOGII
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera
w Bydgoszczy
ul. Marii Skłodowskiej-Curie 9
85-094 Bydgoszcz
tel. +52/ 585-40-20
fax +52/ 585-40-41
e-mail: kikendok@cm.umk.pl

Ocena rozprawy doktorskiej
mgr Luis Felipe Padilla Martinez
z Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii
i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Rozprawa doktorska jest zatytułowana „The use of polygenic risk scores for type 2 diabetes in prediction of metabolic changes”.

Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. Adam Krętowski.

Cukrzyca typu 2 (DM2), jak również związana z nią otyłość, jest chorobą występującą coraz częściej, mówi się wręcz o niej jako o epidemii XXI wieku. Jest spowodowana przede wszystkim tzw. „westernizacją” stylu życia, chociaż dotyczy nie tylko

mieszkańców szeroko pojętego Zachodu, ale również mieszkańców np. Bliskiego Wschodu. Jak wiele chorób przewlekłych, cukrzyca ta nie zaczyna się nagle, uważa się, że na terenach, gdzie nie przeprowadza się badań przesiewowych glikemii, czas który upływa od zachorowania na tę postać cukrzycy do postawienia rozpoznania wynosi około 10 lat. Nierzadko się zdarza, że choroba jest rozpoznawana dopiero na skutek pojawienia się powikłań, które wywołuje. Powikłań (makroangiopatia, mikroangiopatia, neuropatia, stopa cukrzycowa) nie da się już cofnąć, natomiast na wczesnym etapie można im zapobiec. Jeszcze przed wystąpieniem cukrzycy typu 2 można ocenić czynniki ryzyka jej pojawienia się.

Oczywisty jest wobec tego fakt, że każde badanie i postępowanie mogące zapobiec wystąpieniu cukrzycy typu 2 jest bardzo korzystne z punktu widzenia zarówno osobniczego, jak i populacyjnego. Czynników ryzyka jest stosunkowo dużo, Doktorant skupił się na kilku z nich: przede wszystkim na badaniach genetycznych nieprawidłowej glikemii na czczo uważanej za stan przedcukrzycowy (prediabetes), OGTT, parametrach antropometrycznych związanych z nadwagą i otyłością, dyslipidemii, płci. Również cukrzyca typu 1 występuje coraz częściej. W obu przypadkach znajomość genów predysponujących do pojawienia się obu cukrzyce i/lub otyłości umożliwiłaby zapobieżenie ich wystąpieniu u części chorych lub opóźnienie ich wystąpienia i/lub wcześniejsze leczenie.

Zrozumiały więc i godny pochwały jest zamysł doktoranta (i jego Promotora), żeby spróbować ocenić wpływ tych czynników w rozwoju cukrzycy typu 1, 2 i otyłości.

Rozprawa liczy 79 numerowanych stron, zawiera wstęp, cele pracy, materiał i metody badawcze, analizę statystyczną, wyniki badań oraz ich omówienie, 195 pozycji właściwie dobranej literatury, a także 7 rycin i 15 tabel w tekście.

Całości dopełniają: wykaz tabel, rycin, streszczenia w języku polskim i angielskim.

Wykaz skrótów i pojęć używanych w tekście ułatwia ich przypomnienie sobie podczas lektury.

Układ pracy jest typowy: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki badań, ich omówienie i wnioski.

Cel pracy został przedstawiony przejrzysto jako systemowy przegląd badań porównujących skalę ryzyka wielogenowego (PRS) w rozwoju cukrzycy typu 1 i 2, ocenę predykcyjną zmian parametrów klinicznych związanych ze stanem przedcukrzycowym (prediabetes) i powikłań metabolicznych w ocenie PRS dla cukrzycy typu 2 i otyłości oraz ocenę wybranych genotypów polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) dotyczących cukrzycy typu 2 i otyłości i ich skojarzeń z parametrami klinicznymi związanymi z prediabetes i powikłaniami metabolicznymi.

Badania dotyczyły możliwości stworzenia predykcyjnego wielogenowego wskaźnika cukrzycy typu 2 oraz otyłości – PRS – polygenic risk scores oraz znalezienia związku pomiędzy nimi, a zmianami parametrów metabolicznych w czasie.

Do badania włączono 446 pacjentów w stanie przedcukrzycowym z Polskiego Rejestru Cukrzycy prowadzonego przez Klinikę Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Po 5 latach badania powtórzono.

Celem stworzenia PRS dla cukrzycy typu 2 i otyłości doktorant przejrzał odnośne publikacje identyfikując trzy PRS, które odróżniają chorych na cukrzycę typu 1 od zdrowych, 8 – które odróżniają typ 2 od zdrowych, jeden, który odróżnia typ 1 od 2 i 2, które odróżniają typ 1 od cukrzycy monogenowej. Następnie określono polimorfizmy genetyczne pacjentów i zbudowano 68 SNP (Single Nucleotide

Polymorphism) dla cukrzycy typu 2 i 21 dla otyłości. Oceniono też związek pomiędzy PRS dla obu chorób a parametrami metabolicznymi w punkcie wyjścia i 5 lat później. Doktorant znalazł dodatni związek pomiędzy PRS w cukrzycy typu 2, PRS dla otyłości, a zmianą masy tłuszczowej i zmianą glikemii w OGTT. Genotyp AA MTCH2 był istotnie związany z przyrostem glikemii i insulinemii w OGTT. Wyniki badań sugerują, że analizowane parametry mogą być użytecznym narzędziem identyfikacji osób, którym grozi wystąpienie otyłości i/lub cukrzycy typu 2 i pogorszenie parametrów metabolicznych.

Pod względem metodycznym praca nie budzi zastrzeżeń; autor zastosował ogólnie akceptowane procedury badania, w tym rozbudowaną analizę statystyczną, statystyczna ocena wyników badań jest prawidłowa.

Uzyskane rezultaty przedstawione są z dużą dokładnością. Pogrupowanie w tabelach i rycinach ułatwia ich ocenę w poszczególnych grupach chorych oraz interpretację metod jak i uzyskanych wyników.

Autor wyprowadza 3 wnioski, odpowiadające uprzednio założonym celom. Zwraca uwagę na konieczność profilaktyki, wyeliminowania czynników ryzyka oraz wczesnej diagnostyki celem zapobieżenia powikłaniom cukrzycy.

Cel pracy został zrealizowany.

Na zakończenie należy stwierdzić, że praca ma dużą wartość zarówno poznawczą jak i walory praktyczne.

W tym zakresie rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w reprezentowanej przez niego dyscyplinie.

Po przeczytaniu pracy nasuwają się uwagi.

Każdy autor jest związany ze swoim dziełem niemal uczuciowo, w związku z czym nie widzi nawet oczywistych błędów, chociażby tzw. literówek. Niektóre z nich może stwarzać autokorektor lub też może ich nie zauważyć. Doktorant też nie ustrzegł się literówek, np. str. 6 - T1DCG – Type 1 Diabetes Genetics Consortium – powinno być T1DGC

Δ glukozy i insuliny w czasie 120. – oczywiście powinno być 120 minut.

W takiej sytuacji należy dać pracę do przeczytania osobie z nią niezwiązaną, neutralną.

str. 52 – „... as the disease progresses, fat mass decreases in T2D patients [167]”.

Oczywiście, w medycynie może zdarzyć się wszystko, ale w cukrzycy typu 2 jednym z podstawowych problemów jest jednak nadwaga/otyłość i nadmiar tkanki tłuszczowej.

W Table 8 i w dyskusji na stronie 51 porównano rozmaite parametry: BMI, FM, glikemię na czczo i 2 godziny po wypiciu 75,0 glukozy i wiele innych parametrów – wartości wyjściowe i follow-up. Wszystkie wartości podczas follow-up się pogorszyły, z wyjątkiem jednej, IPAQ (min/week) – International Physical Activity Questionnaire – aktywność fizyczna wzrosła z 1344 minut/tydzień wzrosła do 5368 minut/tydzień.

Sądzę, że doktorant powinien odnieść się do tej rozbieżności – aktywność rzeczywista, czy tylko deklarowana? Ewentualnie, czy parametry się pogorszyły mimo wzrostu aktywności?

Oczywiście, dla wartości samej pracy, te drobne potknięcia nie mają żadnego znaczenia, po prostu, recenzent czytając pracę zawsze coś znajdzie. Nie znaleziono natomiast żadnych poważniejszych nieprawidłowości.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Dysertacja przygotowana pod opieką promotora, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata oraz jego umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Z całym przekonaniem kieruję wniosek do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Luis Felipe Padilla Martinez do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na duże walory pracy wnioskuję o jej wyróżnienie.

prof. dr hab. Roman Junik

Kierownik
Katedry Endokrynologii i Diabetologii
Kliniki Endokrynologii i Diabetologii

prof. dr hab. Roman Junik

Bydgoszcz, 10th November 2022 r.

KATEDRA I KLINIKA ENDOKRYNOLOGII

I DIABETOLOGII

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera

w Bydgoszczy

ul. Marii Skłodowskiej-Curie 9

85-094 Bydgoszcz

tel. +52/ 585-40-20

fax +52/ 585-40-41

e-mail: kikendok@cm.umk.pl

Ph.D. Thesis Evaluation Report

Luis Felipe Padilla Martinez

From Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii

i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Thesis title is "The use of polygenic risk scores for type 2 diabetes in prediction of metabolic changes". The supervisor of the thesis is prof. dr hab. Adam Krętownski.

Diabetes mellitus type 2 (DM2), as well as diabetes mellitus-associated obesity, is a disease occurring more and more frequently. It is even called the epidemic of the 21st century. It is mainly caused by "westernization" of lifestyle although it affects not only the inhabitants of broadly understood western societies but also the inhabitants of, for example, the Middle East. As many chronic diseases, diabetes mellitus type 2 doesn't occur suddenly. It is believed that in territories where no glucose screening tests are being performed the time between onset and diagnosis is about 10 years. Often not until the onset of diabetes mellitus-associated complications. These complications (macroangiopathy, microangiopathy, neuropathy, diabetic foot) are irreversible but it is possible to prevent the onset of the complications if diagnosed early. Even before the onset of diabetes mellitus type 2 it is possible to assess risk factors of its onset. The obvious fact is that every test or procedure that may potentially prevent the onset of diabetes mellitus type 2 is very favorable in both individual and social cases. There is a lot of risk factors. PhD student focused on some of them: most of all on genetic testing of impaired fasting glucose considered as prediabetes, OGTT, anthropometric measurement associated with overweight and obesity, dyslipidemias, sex. Also diabetes mellitus type 1 occurs more and more frequently. In both incidents, knowledge of genes that predispose to diabetes mellitus type 1 or 2 and/or obesity may prevent their onset in some patients or delay the onset or allow for an early treatment. The idea of the PhD student (and of his supervisor) to assess the influence of these factors in development of diabetes mellitus type 2 is

understandable and commendable. List of abbreviations and names used in the thesis facilitates recalling them during reading it.

The PhD thesis has a classical layout: introduction, aim of thesis, materials and methods, results, results discussion and conclusions.

The PhD thesis contains introduction, aim of thesis, statistics, materials and methods, results, results discussion and conclusions totaling to 79 pages, a list of cited literature, containing 195 positions, 7 figures and 15 tables.

The thesis is completed with a set of tables, set of figures and a bilingual abstract, provided both in Polish and English.

The purpose of this study has been clearly presented as a system overview of tests that compare the polygenic risk score (PRS) in the development of diabetes mellitus type 1 and 2, of predictive evaluation of changes in clinical parameters connected with prediabetes and metabolic complications in the evaluation of PRS in diabetes mellitus 2 and in the obesity and of evaluation of chosen single nucleotides polymorphism (SNP) concerning diabetes mellitus type 2 and obesity and their association with clinical parameters connected with prediabetes and metabolic complications.

The study were focused on possible creation of a polygenetic predictive factor of diabetes mellitus type 2 and obesity - PRS - polygenic risk scores – and finding the relation between them and the changes in metabolic parameters in time.

446 prediabetic patients from Polish Registry of Diabetes conducted by Department of Endocrinology, Diabetology and Internal Medicine of Medical University in Białystok were included in the study. Tests were repeated after 5 years.

To create PRS for diabetes mellitus type 2 and for obesity the PhD student reviewed publications identifying 3 PRS that distinguish diabetes mellitus type 1 patients from healthy patients, 8 PRS that distinguish diabetes mellitus type 2 patients from healthy patients, 1 PRS that distinguish diabetes mellitus type 1 patients from diabetes mellitus type 2 patients and 2 PRS that distinguish diabetes mellitus type 1 patients from monogenic diabetes mellitus patients. Then genetic polymorphisms of the patients were specified and 68 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) were built for diabetes mellitus type 2 and 21 for obesity. The relations between PRS for both diseases and the metabolic parameters at starting point and 5 years later were assessed. The PhD student found a positive correlation between PRS in diabetes mellitus type 2, PRS in obesity and the change of fat tissue mass and the change of glucose blood level in OGTT. AA MTCH2 genotype was significantly associated with the increase of blood glucose level and blood insulin level in OGTT. Study results suggest that analyzed parameters may be an useful instrument for identifying patients who are at risk of obesity and/or diabetes mellitus type 2 and of worsening of the metabolic parameters.

The aim of the thesis has been successfully performed.

Summarizing, it must therefore be concluded that the dissertation has a high cognitive and practical value. The dissertation, in this respect, offers a genuine solution to the scientific problem and demonstrate a general theoretical knowledge of the candidate in a given discipline.

After reading the thesis, following remarks are arising.

Every author is nearly emotionally connected to his dissertation and therefore does not notice even obvious mistakes, such as so called typos. Some of them may arise from autocorrection or of not noticing them.

The PhD student didn't avoid typos, i. e.: page 6 - T1DCG – Type 1 Diabetes Genetics Consortium instead of T1DGC.

Δ glucose i insulin in 120. – it should be 120 min obviously.

In this situation, a neutral person not connected to the thesis may read it.

Page 52 – „... as the disease progresses, fat mass decreases in T2D patients [167]”.

Of course, in medicine, everything is possible but one of the basic problems in diabetes mellitus type 2 is rather overweight/obesity and the excess of fat tissue.

Various parameters have been compared in table 8 and in the discussion at page 51:

BMI, FM, fasting blood glucose and 2 hours after drinking 75 mg of and many other parameters – the outlet values and follow-up. Each parameter got worst during

follow-up but one: IPAQ (min/week) - International Physical Activity Questionnaire –

the physical activity has risen from 1344 min/week to 5368 min/week. I think that the

PhD student shall refer to these discrepancies – real or only declared activity?

Alternatively, whether the parameters deteriorated despite the increase of activity?

Of course, these minor mistakes have no negative influence on the thesis by itself, the reviewer is just always able to find any mistakes. No serious irregularities were found.

Dissertation prepared under the supervision of the promoter constitutes a genuine solution to the scientific problem, demonstrates a general theoretical knowledge of the candidate and ability to carry on scientific work independently.

Methodologically, the thesis does not raise any objections; the author used generally acceptable study procedures including advanced statistical analysis. Statistical analysis of results is correct. The results are presented with high accuracy in tables and figures that facilitates their evaluation in particular groups of patients and the interpretation of methods and obtained results. The PhD student draws 3 conclusions that correspond to existing objectives. He pays attention to the necessity of prevention, elimination of risk factors and early diagnosis of the disease for preventing the complications of diabetes mellitus.

I wholeheartedly shall refer the request to the Senate of Medical University in Białystok to allow mgr Luis Felipe Padilla Martinez take part in further stages of doctoral dissertation. Because of great educational values of the thesis I assume it shall be granted a distinction.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

prof. dr hab. Roman Junik
Kierownik
Katedry Endokrynologii i Diabetologii
Kliniki Endokrynologii i Diabetologii
prof. dr hab. Roman Junik