UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Samczuk pt. „*Application of untargeted metabolomics to study metabolic effects of bariatric surgeries*" wykonanej pod kierunkiem dr hab. Michała Ciborowskiego z Centrum Badań Klinicznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz prof. Coral Barbas z Center for Metabolomics and Bioanalysis (CEMBIO) Uniwersytetu San Pablo

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa dotyczy możliwości wykorzystania metaboliki niecelowanej do oceny wpływu na metabolizm człowieka operacji bariatrycznych, jedynej skutecznej metody walki z otyłością olbrzymią i jej komplikacjami. Autorka skupia się na zróżnicowaniu efektu wynikającym z typu zabiegu operacyjnego oraz na wyłonieniu metabolicznych determinant zróżnicowania dynamiki poprawy wskaźników klinicznych cukrzycy typu 2, współwystępującej z otyłością. W ostatnich latach obserwuje się dramatyczny wzrost liczby osób cierpiących na nadwagę/otyłość, również w Polsce i, co szczególnie niepokojące, również wśród dzieci. Otyłość nie jest już postrzegana wyłącznie jako problem kosmetyczny, równolegle z otyłością rośnie bowiem liczba zachorowań na cukrzycę typu 2 i choroby sercowo-naczyniowe, będące główną przyczyną zgonów na świecie, a których wiodącym czynnikiem ryzyka jest właśnie otyłość. Choć patogeneza otyłości jest wieloczynnikowa, zarówno ona, jak i powiązane z nią hiperinsulinemia, insulinooporność, hiperurykemia i dyslipidemia, są przede wszystkim zaburzeniami metabolizmu węglowodanów i lipidów. Tym samym metabolomika, będąca najmłodszą z „omik", jest niewątpliwie najwłaściwszym narzędziem do jej badania. Uważam zatem, że zagadnienia będące przedmiotem dysertacji mgr Pauliny Samczuk są bardzo aktualne i istotne z punktu widzenia społecznego. Zwraca uwagę nie tylko zastosowanie przez Doktorantkę bardzo nowoczesnego warsztatu badawczego (spektrometria mas powiązana z zaawansowaną analizą bioinformatyczną), ale i oryginalność, wszechstronność i interdyscyplinarność ujęcia tematu, szczególnie w wymiarze interpretacyjnym. Autorka nie tylko przedstawia tzw. „metaboliczne odciski palców", ale i nadaje uzyskanym wynikom szeroki kontekst, szkicując sieć wzajemnych powiązań między metabolitami a ścieżkami przemian biochemicznych i mechanizmami odpowiedzi na stres. Proponuje także i analizuje możliwe związki przyczynowo-skutkowe, w których ujmuje również wpływ mikrobiomu przewodu pokarmowego,

ul. Chałubińskiego 10, 50-368 Wrocław
T: +48 71 784 13 70; F: +48 71 784 00 85; www.umed.wroc.pl

budzący w ostatnich latach szczególne zainteresowanie w kontekście patogenezy chorób cywilizacyjnych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa liczy 125 stron maszynopisu i stanowi zbiór trzech publikacji – jednej pracy poglądowej i dwóch prac oryginalnych, w których Doktorantka jest pierwszym autorem, a w dwóch również autorem korespondencyjnym. Dwie z prac zostały opublikowane w czasopismach ze współczynnikiem wpływu (łączny IF=5.716, 60 punktów MNiSW), jedna natomiast znajduje się w recenzji. Pracom towarzyszy omówienie, obejmujące Wstęp, Cele rozprawy, Materiały i metody, podsumowanie uzyskanych Wyników wraz z rozszerzoną Dyskusją oraz Wnioski i Podsumowanie pracy w j. angielskim i polskim. Rozprawę uzupełniają spis treści oraz wykaz literatury i użytych w pracy skrótów, a zamykają oświadczenia o udziale procentowym poszczególnych autorów w publikacjach będących podstawą dysertacji oraz ich zgody na wykorzystanie prac do przygotowania rozprawy. Podkreślić należy wiodący udział Doktorantki w opublikowanych pracach, a wynoszący conajmniej 70%, choć w załączonym oświadczeniu zabrakło podpisu samej Autorki.

Wstępy, zarówno w omówieniu, jak i w poszczególnych publikacjach, są napisane przejrzyście i w sposób wyczerpujący, a piśmiennictwo zostało dobrane właściwie. Do tej części pracy mam jedynie uwagę o charakterze polemicznym. Omawiając przyczyny otyłości, Doktorantka niesłusznie marginalizuje zaburzenia endokrynologiczne. Szczególnie ścisły jest związek między otyłością a niedoczynnością tarczycy czy hiperprolaktynemią, które bezpośrednio spowalniają procesy kataboliczne a nasilają anaboliczne. Ponadto przyczyniają się do otyłości również pośrednio - z jednej strony prowadzą do rozwoju hiperinsulinemii i/lub insulinooporności, która z kolei indukuje otyłość, a z drugiej do rozwoju depresji, z którą wiąże się najczęściej spadek aktywności fizycznej oraz niekorzystne zmiany w sposobie odżywiania, stanowiące behawioralne przyczyny otyłości. Pamiętać należy, że, podobnie jak w przypadku otyłości, w Polsce aktualnie obserwowany jest wzrost liczby zachorowań na chorobę Hashimoto, określany wręcz mianem „lawinowego", oraz na nowotwory tarczycy, a więc choroby skutkujące niedoczynnością gruczołu. Rośnie również częstość występowania czynnościowej hiperprolaktynemii, która, podobnie jak hiperkortyzolemia, jest w dużej mierze konsekwencją stresu. Zaniedbanie przyczyn endokrynologicznych i promowanie diet nieuwzględniających ich specyfiki oraz pokutujące wciąż przekonanie, że żywieniową przyczyną otyłości jest dieta bogatotłuszczowa są w dużej mierze przyczyną nieskuteczności farmakoterapii i modyfikacji trybu życia w leczeniu otyłości.

W dalszej części omówienia Doktorantka precyzuje trzy cele dysertacji, które ściśle odpowiadają ujętym w rozprawie publikacjom. Rozdział „Materiały i metody" zawiera zarówno opis kryteriów wykorzystanych do przygotowania pracy przeglądowej (przeszukane bazy danych, słowa kluczowe, ramy czasowe, język publikacji, gatunek i rodzaj materiału biologicznego na którym prowadzono badania), jak i opis grup badanych oraz metodyki wykorzystanej w pracach oryginalnych. Rozdział ten warto byłoby uzupełnić o informacje, których zabrakło w pracach oryginalnych: 1)

warunki uzyskania surowicy do badań (publikacja #2); 2) kryteria selekcji pacjentów do badań (kryteria włączenia i wyłączenia) oraz wskazać okres rekrutacji (w publikacji #3 Doktorantka deklaruje, że wybrano 20 pacjentów spośród 372); 3) sprecyzować kryteria wyodrębnienia dwóch grup badanych (publikacja #3: określenia „szybsza" i „wolniejsza" remisja są subiektywne, a kwalifikatory niejasne – w omówieniu Doktorantka wspomina wskaźnik HOMA-IR (jakie wartości były punktem odcięcia?), w pracy oryginalnej natomiast mowa jest również o innych (jakich?) parametrach; 4) czy grupa badana z publikacji #3 jest wyselekcjonowaną częścią grupy badanej z publikacji #2, czy są to dwie różne grupy? Uważam również, że posługiwanie się pojęciem remisji cukrzycy typu 2 nie jest trafione. Diagnoza cukrzycy, co przywołuje również Doktorantka, opiera się na stwierdzeniu hiperglikemii. Analogicznie, za kryterium remisji uznać należy normoglikemię. Obie grupy badane nie różniły się znamiennie pod względem glikemii, a wysokie odchylenia standardowe przy średnich stężeniach glukozy wskazują, że u części pacjentów normoglikemia nie została osiągnięta, a więc trudno w takich przypadkach mówić o remisji cukrzycy. Wydzielone przez Doktorantkę grupy różnią się natomiast znamiennie pod względem parametrów powiązanych z insuliną (insulina na czczo, wskaźnik HOMA-IR). Zatem wobec grup wydzielonych na podstawie różnic w HOMA-IR, poprawniej byłoby używać sformułowania „grupy o różnej dynamice poprawy insulinowrażliwości".

Wyniki przedstawione są w formie licznych tabel, wykresów, diagramów i schematów, ułatwiających zrozumienie i analizę bardzo obszernego i złożonego materiału wynikowego. Z obowiązku recenzenta, muszę jednak zwrócić Doktorantce uwagę, że czytelność niektórych tabel czy wykresów i diagramów poprawiłoby dodanie legend (Fig.1, s.70, Fig.3, s.77), uzupełnienie wykresów o miary rozrzutu (Fig.1, s.70), objaśnienie zastosowanych w nich skrótów, tak by były zrozumiałe bez konieczności odwoływania się do tekstu (większość tabel i rysunków) oraz zunifikowanie sposobu przedstawiania związku danego metabolitu z odpowiednim szklakiem/procesem (pod względem gramatycznym oraz przedstawianie z (preferowane) lub bez określenia kierunku wpływu – Tab.1, s.44; Tab.2, s.45) i unikanie powtórzeń (np. dla leucyny: "insulin resistance" i "establishes insulin resistance"; "increased in T2DM" i "diabetes"", etc.). Tabele prezentujące stosunkową zmianę stężenia nie precyzują, czy jest to stosunek wyniku po operacji w stosunku do wyniku przed operacją (tak byłoby intuicyjnie), czy odwrotnie, jak sugeruje nagłówek tabeli („0 *vs* 1 month", Tab. 3, s.72-73 i Tab.4, s.74). W interpretacji nie pomaga, że wynik kwasu moczowego (FC>1) jest w ogólnej dyskusji interpretowany jako spadek po operacji. Niektóre z użytych w pracy haseł nie są jasne i wymagają objaśnienia („biochemical depression" - ?, Tab.1, s.44) lub są prawdopodobnie nieco niezręcznie sformułowane („inflammation retirement" - resolution? Fig.2, s.46 i Fig.4, s.91; „time of T2DM lasting" – T2DM duration? Tab. 1, s.70). Wyniki korelacji między metabolitami byłyby zdecydowanie czytelniejsze, gdyby przedstawić je w formie tabeli (s.74-75). Mimo, że praca napisana jest bardzo ładnym angielskim, Autorka nie uniknęła drobnych błędów językowych, szczególnie w częściach dysertacji będących omówieniem publikacji. Pojawiają się też niewielkie błędy edytorskie,

głównie dotyczące braku objaśnień skrótów i niekonsekwencji w ich używaniu, chaotycznego używania liter małych i dużych, etc.

W Dyskusjach Doktorantka sprawnie zestawia wyniki własne z danymi z piśmiennictwa, wykazując się dużą jego znajomością. Na szczególny szacunek zasługuje sprawność z jaką Doktorantka analizuje bardzo obszerne dane metaboliczne, wyłuskując znamienne różnice i nadając im znaczenie poprzez łączenie zmienionych metabolitów z odpowiednimi procesami biochemicznymi, na które mogą one mieć wpływ. Biegłość ta świadczy o bardzo dobrej znajomości biochemii i dojrzałości naukowej mgr Pauliny Samczuk. Mimo tego, w pracę wdarły się drobne błędy rzeczowe: metionina, alanina i lizyna nie są aminokwasami aromatycznymi (s.34) a kwas mlekowy nie jest bezpośrednim intermediatem cyklu Krebsa (s.37). Miejscami nieco zabrakło też próby wyjaśnienia zaobserwowanych rozbieżności. Przykładem może być wzrost stężenia kwasu moczowego po zabiegu bariatrycznym obserwowany w obu publikacjach. Wynik ten jest nieintuicyjny, ze względu na dodatnią korelację między kwasem moczowym a insuliną i insulinoopornością (a parametry te po operacji się obniżają) i sprzeczny z doniesieniami literaturowymi przytaczanymi przez Doktorantkę w publikacji poglądowej (poz. 31: Oberbach et al.). Co więcej, w opisie wyników (s.43, rozdz.3.1) oraz ich dyskusji (s.90) pojawia się raczej informacja o spadku stężenia kwasu moczowego, sprzeczna z wynikami prezentowanymi w tabelach (Tab.S1, s.53 i Tab.3, s.72). Prosiłabym też Doktorantkę o odniesienie się do rozbieżności w wynikach uzyskanych dla kwasu mlekowego w badanich LC-MS (Tab.3, s.72) i GC-MS (Tab.4, s.74). W dyskusji do publikacji 3 (s.79) Doktorantka omawia wyniki wzrostu stężenia cytrynianu po operacji bariatrycznej, wskazując na związek tego metabolitu z regulacją wydzielania insuliny. Jednakże, cytrynian stymuluje wydzielanie insuliny, tymczasem w omawianej pracy Autorka wykazuje wzrost stężenia cytrynianu a spadek stężenia insuliny i insulinooporności, reprezentowanej przez wskaźnik HOMA-IR. Pracę zamyka pięć trafnie sformułowanych wniosków. Wynikają one bezpośrednio z uzyskanych rezultatów badań i są tym samym merytorycznie uzasadnione.

Podsumowując uważam, że przeprowadzone przez Doktorantkę badania są nowatorskie, praca została dobrze i z rozmachem zaplanowana, poprawnie wykonana, a jej wyniki są ważne z punktu widzenia naukowego i społecznego. Zachęcam bardzo Autorkę do kontynuacji badań i potwierdzenia tez pracy na większej populacji, co umożliwi lepsze dopasowanie grup badanych i zastosowanie bogatszych metod statystycznych analizy danych, a tym samym uwiarygodni przedstawione w badaniach pilotażowych wzajemne zależności i związki przyczynowo-skutkowe. Pragnę podkreślić, że wymienione w recenzji uwagi w niczym nie podważają poprawności założeń pracy, czy też jej wartości merytorycznej, ani też nie umniejszają mojego bardzo pozytywnego jej odbioru.

Uważam zatem, że rozprawa doktorska mgr Pauliny Samczuk p.t.: „*Application of untargeted metabolomics to study metabolic effects of bariatric surgeries*", 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.). Dlatego wnioskuję do Rady Wydziału

Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Odddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o przyjęcie tej pracy doktorskiej i dopuszczenie mgr Pauliny Samczuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Pozwolę sobie również złożyć Wysokiej Radzie wniosek o wyróżnienie rozprawy ze względu na jej nowatorski charakter oraz dużą wartość merytoryczną i wydźwięk społeczny.

Wrocław, 06.11.2018

Z poważaniem

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I ZAKŁAD
BIOCHEMII LEKARSKIEJ
adiunkt
dr hab. Małgorzata Krzystek-Korpacka