Poznań, 2.04.2019 r.

Prof. dr hab. med. Dorota Zozulińska-Ziółkiewicz
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu.
Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Diabetologii

Recenzja
rozprawy przygotowanej na stopień doktora nauk medycznych
przez lek. Łukasza Szczerbińskiego
pt. Profil ekspresji genów mięśni szkieletowych w zaburzeniach metabolizmu glukozy oraz jego zmiany pod wpływem trzymiesięcznej interwencji wysiłkowej u ludzi
Promotor: prof. dr hab. n. med. Adam Krętowski
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Rozprawa doktorska lek. Łukasza Szczerbińskiego dotyczy niezwykle istotnego problemu klinicznego i społecznego jaki stanowi cukrzyca typu 2. Obserwowany gwałtowny wzrost liczby chorych na cukrzycę jest m.in. konsekwencją korzystania z udogodnień cywilizacyjnych, prowadzących do zmniejszenia codziennej aktywności ruchowej. Lenistwo fizyczne definiowane jest czasem przebywania w ruchu oraz czasem spędzanym w pozycji siedzącej. Równowaga energetyczna organizmu w istotnym wymiarze zależy od procesów metabolicznych zachodzących w mięśniach. Zmniejszona wrażliwość mięśni szkieletowych na działanie insuliny odgrywa istotną rolę w etiopatogenezie zaburzeń metabolizmu glukozy wyrażonych hiperglikemią.

Będąca przedmiotem recenzji praca posiada typowy układ dla rozpraw doktorskich w formie monografii.

Wstęp stanowi obszerne w tekście i treści wprowadzenie do celu pracy. W oparciu o aktualne dane literaturowe przedstawiono definicję i kryteria rozpoznania cukrzycy, epidemiologię cukrzycy typu 2 i czynniki zwiększające ryzyko jej wystąpienia. Ponadto, szczegółowo opisano działania prewencyjne, z uwzględnieniem wpływu leczenia ruchem. Opisano rodzaje aktywności fizycznej i zmiany zachodzące w mięśniach pod wpływem systematycznego treningu fizycznego.

Założenia pracy zostały sformułowane jasno i precyzyjnie uzasadniają podjęty cel ogólny i cele szczegółowe badania, którymi były: porównanie odpowiedzi klinicznej i zmian w transkryptomie mięśni szkieletowych na interwencję, którą był 3-miesięczny trening fizyczny.

Projekt badawczy posiada zgodę Komisji Bioetycznej i przeprowadzony został zgodnie z deklaracją Helsińską.

Badania przeprowadzono wśród dorosłych prowadzących siedzący tryb życia. Dobór pacjentów do badania był celowy uwzględniający kryteria włączenia (wiek: 35-65 lat, BMI: 25-35 kg/m^2, płeć męska, siedzący tryb życia i możliwości do podjęcia aktywności fizycznej oraz dla grupy z cukrzycą typu 2 dodatkowo HbA1c <6,5% przy dopuszczonej w farmakoterapii jedynie metforminie) oraz kryteria wykluczenia, którymi słusznie były palenie papierosów, zażywanie narkotyków i spożywanie alkoholu, deklarowana aktywność fizyczna, farmakoterapia, z wyjątkiem stosowania przez chorych na cukrzycę typu 2 metforminy i inhibitorów enzymu konwertującego z powodu nadciśnienia tętniczego oraz nieprawidłowości stwierdzone w badaniu przedmiotowym, w tym u chorych na cukrzycę przewlekłe powikłania neurowaskularne schorzenia.

Do badania włączono 15 mężczyzn z normoglikemią, 12 ze stanem przedcukrzycowym oraz 8 z cukrzycą typu 2. Badani poddani byli podobnej 3-miesiecznej interwencji polegającej na trzech w tygodniu sesjach treningowych o podobnej konstrukcji tj. rozgrzewka 15-minutowa, 40 minut ćwiczeń siłowych i 30 minut wytrzymałościowych o umiarkowanej intensywności. Sumarycznie w trakcie interwencji uczestnicy odbyli 36 jednostek treningowych. Każdy z uczestników przed interwencją miał ocenione VO2max (maksymalna zdolność pochłaniania tlenu) w progresywnym teście wysiłkowym na bieżni ruchomej wg protokołu Balke, który uznano za odpowiedni dla badanej grupy. Oceniono skład ciała metodą absorpcjometrii przy użyciu aparatu iDXA. U każdego uczestnika wykonano test doustnego obciążenia glukozą z oceną glikemii i insulinemii w 30 , 60 i 120 minucie po konsumpcji 75 g glukozy. Uzyskane wyniki pozwoliły na wyliczenie wskaźników insulinooporności (HOMA-IR; wskaźnik Matsuda) oraz funkcji komórek beta (HOMA-β). Przed oraz po interwencji wykonano biopsję mięśnia obszernego bocznego uda. Z materiału biopsyjnego izolowano RNA. Sekwencjonowanie mRNA wykonano przy użyciu platformy HiSeq 4000 i wykorzystano najnowsze techniki biologii molekularnej celem oceny profilu ekspresji genów.

Metodyka badania została opisana szczegółowo i wyczerpująco. Zastosowane metody dobrano adekwatnie dla potrzeb badania wykorzystując technologie najnowszej generacji.

W analizie statystycznej zastosowano adekwatne dla potrzeb badania testy.

Wyniki badania przedstawiono na 62 stronach w postaci tekstowej, tabelarycznej i na rycinach. Wyniki opisano w sposób uporządkowany, z logiczną konsekwencją względem metod badawczych.

W profilu ekspresji genów stwierdzono istotne różnice pomiędzy chorymi na cukrzycę typu 2, a mężczyznami z normoglikemią i stanem przedcukrzycowym. Chociaż interwencja w postaci treningu fizycznego okazała się efektywna klinicznie we wszystkich grupach to nie zniwelowała różnic między grupami sprzed interwencji.

Zmiany w profilu ekspresji genów dotyczyły głównie tych genów, które związane są z funkcją mitochondriów.

Badania wyraźnie wskazują, że cukrzyca typu 2 jest chorobą związaną z destrukcją energetyczną i dysfunkcją mitochondriów. Świetnie zaprojektowane i wykonane badanie dowodzi, że zaburzona funkcja mitochondriów w mięśniach szkieletowych pojawia się w cukrzycy typu 2. U osób zagrożonych cukrzycą typu 2 z normoglikemią i stanem przedcukrzycowym w naturalnym przebiegu zaburzeń insulinooporność początkowo dotyczy innych narządów niż mięśnie.

W dyskusji lek. Łukasz Szczerbiński ustosunkowuje się do wyników własnych w odniesieniu do danych z wcześniej opublikowanych prac. W tej części rozprawy Doktorant trafnie uzasadnia wyniki własne, opierając interpretacje na dobrze dobranych dowodach naukowych.

Wnioski w liczbie 4 odpowiadają na postawiony cel i uzasadnione są wynikami badań.

436 cytowanych pozycji piśmiennictwa obejmuje najważniejsze prace z zakresu tematu doktoratu i potwierdza jak i cała rozprawa dużą wiedzę Doktoranta w podjętym temacie.

Praca napisana została niezwykle starannie z zachowaną logiką przekazu informacji w edytorskiej elegancji.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską, zawarte w niej treści nasunęły mi następujące pytania:

1. Czy użyty w badaniu wzór Foxa i Hakell'sa na wyznaczenie maksymalnego tętna (HRmax) był dobrym wyborem? Opracowany w 1971 roku, najpopularniejszy i najprostszy, ale obarczony dużą niedoskonałością
2. Który z elementów treningu głównie wpłynął na poprawę funkcji mitochondriów i czy zastosowane proporcje wysiłku tlenowego i beztlenowego były optymalnymi w tym aspekcie?

3. W grupie chorych na cukrzycę typu 2 po interwencji odnotowano spadek stężenia w surowicy frakcji HDL-cholesterolu, przeciwnie jak w grupie z normoglikemią i stanem przedcukrzycowym, pomimo, że odnotowano redukcję masy ciała, redukcję masy tłuszczowej i wzrost beztłuszczowej oraz poprawę VO2max. Jak to wytłumaczyć?

W języku angielskim nazwa własna Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego brzmi Diabetes Poland, a nie jak uzyto w pracy Polish Diabetes Association

Podsumowując, przedłożona do recenzji rozprawa doktorska zawiera treści o dużym znaczeniu praktycznym i stanowi istotny wkład do dotychczasowej wiedzy na zadany temat. Mocną stroną przeprowadzonych badań jest przemyślana metodologia i wykorzystanie nowatorskich metod badawczych. Zawarte w recenzji drobne uwagi i wątpliwości nie umniejszają wartości pracy jedynie mogą być przydatne przy przygotowywaniu manuskryptu do publikacji w czasopismach naukowych.

Biorąc pod uwagę całość pracy lek. Łukasza Szczerbińskiego uważam, że Kandydat poprzez swoje badania, analizy oraz wnioskowanie przyczynia się do postępu w dziedzinie badań nad cukrzycą. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a doktorant wykazał się wiedzą teoretyczną w dyscyplinie oraz posiada umiejętność prowadzenia badań naukowym. W ten sposób spełnia warunki wymagane od dysertacji doktorskich. Wartość podjętego tematu, zastosowana metodyka, a przede wszystkim interesujące wyniki mające ważne implikacje kliniczne czynią pracę godną wyróżnienia.

Wnoszę więc do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Łukasza Szczerbińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Dorota Zozulińska-Ziółkiewicz