Recenzja

pracy na stopień doktora nauk medycznych

lek. med. Łukasza Szczerbińskiego

p.t."Profil ekspresji genów mięśni szkieletowych w zaburzeniach metabolizmu glukozy oraz jego zmiany pod wpływem trzymiesięcznej interwencji wysiłkowej u ludzi"

Celem pracy była ocena profilu transkryptomowego związanego z aktywnością mięśni szkieletowych w kontekście metabolizmu glukozy przed i po okresie 3-miesięcznej interwencji polegającej na zwiększeniu aktywności fizycznej.

Praca napisana jest w jeżyku angielskim, bardzo dobrze pod względem stylistycznym i gramatycznym.

Przedstawiona do oceny praca obejmuje: 186 strony tekstu, 436 pozycji cytowanego piśmiennictwa.

Układ pracy jest klasyczny i obejmuje: Wykaz skrótów (str. 1-7), Wstęp (str. 8-48), Cel pracy (str. 49), Materiał i Metody badań (str. 50-65), Wyniki (str. 66-128), Dyskusję (str. 129-152), Podsumowanie (str.153). W pracy zawarto również: Spis treści, Piśmiennictwo, Streszczenia w języku polskim i angielskim, listę rycin i tabel.

Tematyka pracy została wybrana bardzo dobrze. Wysiłek fizyczny uważany jest współcześnie za integralny element terapii cukrzycy, ciągle jednak trwają dyskusje dotyczące krótko i długoterminowych efektów aktywności fizycznej, wystarczającej „dawki" wysiłku fizycznego.

Badanie polegało na ocenie zmian szeregu parametrów antropometrycznych, biochemicznych, klinicznych, ocenie modyfikacji profilu transkryptomowego przed i po okresie kontrolowanego wysiłku fizycznego.

Wstęp do pracy jest rozbudowany. Obejmuje omówienie definicji i kryteriów diagnostycznych cukrzycy typu 2 (T2DM), epidemiologię choroby, etiopatogenezę cukrzycy typu 2 ze szczegółowym opisem roli czynników genetycznych i środowiskowych w rozwoju schorzenia, a także patofizjologię rozwoju T2DM. We wstępnie doktorant omawia wreszcie metody pierwotnej i wtórnej prewencji cukrzycy typu 2 ze szczególnym uwzględnieniem roli wysiłku fizycznego.

Cel badania sformułowany jest w sposób jasny i klarowny, potencjał badania, zarówno naukowy jak i utylitarny-bardzo duży.

Badana kohorta składała się z 35 mężczyzn (15 bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej, 12 ze stanem przedcukrzycowym oraz 8 z cukrzycą typu 2). Interwencja polegała na 3-miesięcznym okresie zwiększonej aktywności fizycznej: 3 sesje treningowe w tygodniu (po 85 min każda), związane z tlenowym i oporowym wysiłkiem fizycznym. Sesje wysiłkowe zostały dobrze opisane pod kątem charakteru wysiłku oraz obciążenia wysiłkiem. Co ważne, wysiłek fizyczny był monitorowany, co pozwoliło na uniknięcie sytuacji, w których dawka wysiłku fizycznego na poszczególnych sesjach różniłaby się wyraźnie między uczestnikami. Istotnym elementem protokołu był tez nadzór dietetyczny nad uczestnikami badania pozwalający na eliminacje potencjalnej dodatkowej zmiennej mogącej wpływać na wyniki obserwacji, czyli diety. Przed i po badaniu oceniano szereg parametrów antropometrycznych, biochemicznych, dokonywano biopsji mięśniowej, izolowano i zabezpieczano RNA. Ocena profilu transkryptomowego oparta była o nowoczesne technologie z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji. Analiza statystyczna dokonana prawidłowo w oparciu o nowoczesne modele obliczeniowe.

Co także bardzo istotne badana grupa była grupą homogenną: wszyscy musieli się wyjściowo cechować siedzącym trybem życia, nie było jedynym dopuszczalnym leczeniem cukrzycy była Metformina, HbA1c <6.5%, osoby ze wszystkich grup nie różniły się istotnie statystycznie pod kątem BMI.

Grupa może wydawać się stosunkowo niewielka. Należy jednak podkreślić następujące fakty:

- dużą złożoność protokołu

- czasochłonność protokołu z punktu widzenia pacjenta

- konieczność wyrażenia zgody na dwukrotną biopsję mięśniową

- gotowość do istotnego zwiększenia przez pacjenta aktywności fizycznej

Na szczególne uznanie zasługuje utrzymanie zwiększonej aktywności fizycznej w całej badanej grupie przez pełne 3 miesiące. To jest olbrzymia wartość tej analizy. Dostępne dane literaturowe dotyczące podobnych zagadnień w zdecydowanej większości oparte są o modele zwierzęce, jeżeli dotyczą ludzi, to są to krótkie obserwacje na małych populacjach, często w młodszych grupach wiekowych. W przypadku omawianej pracy udało się utrzymać pacjentów w zakładanym cyklu treningowym, co więcej, wysiłek fizyczny udało się wdrożyć w grupie mało na niego podatnej-osoby w średnim wieku, z nadwagą/otyłością, wcześniej charakteryzujące się siedzącym trybem życia. Ale z drugiej strony danych z takich właśnie populacji potrzebujemy, interwencja polegająca na zwiększeniu aktywności fizycznej u pacjentów reprezentowanych w niniejszym badania może mieć kluczowe znaczenia dla dalszych losów pacjenta. Zdaniem recenzenta na tym polega największa wartość badania.

Wyniki przedstawiono w sposób klarowny i zrozumiały. Dla omówienia wyników doktorant posłużył się między innymi 33 tabelami i 17 rycinami. W swojej pracy doktorant zacytował 436 pozycji piśmiennictwa. Już same te liczby świadczą bardzo dobrze o nakładzie pracy włożonym w interpretację i przedyskutowanie wyników, ale trzeba podkreślić, iż także merytorycznie interpretacja wyników jest na bardzo wysokim poziomie.

Już analiza profilu ekspresji genów związanych z funkcjonowaniem mięśni szkieletowych przed kontrolowanym wysiłkiem fizycznym dała ciekawe wyniki – zaobserwowano istotne różnice między pacjentami z cukrzycą typu 2 a dwiema pozostałymi grupami, przy braku różnic między populacją zdrową a cechującą się stanem przedcukrzycowym. Różnice profilu ekspresji dotyczyły głównie genów związanych z funkcją mitochondriów. Interwencja wysiłkowa we wszystkich grupach była tak samo efektywna klinicznie, jednak nie zniwelowała różnic istniejących przed jej rozpoczęciem. Zmiany profilu ekspresji genów dokonujące się pod wpływem kontrolowanego wysiłku fizycznego, także dotyczyły przede wszystkim genów związanych z funkcjonowaniem mitochondriów.

Dyskusja przeprowadzona została rzetelnie i krytycznie. Doktorant bardzo dobrze dobrał piśmiennictwo.

Końcowe wnioski doktoranta są bardzo ważne dla poznania natury, patogenezy cukrzycy typu 2, roli wysiłku fizycznego w jej profilaktyce i leczeniu. Uzyskane przez doktoranta wyniki sugerują, iż głównym defektem związanym z patogenezą cukrzycy typu 2 w mięśniach szkieletowych jest dysfunkcja mitochondriów, oraz że wysiłek fizyczny może prowadzić do częściowego odwrócenia tego defektu. Brak różnic w profilu ekspresji genów w mięśniach szkieletowych pomiędzy pacjentami z normoglikemią a stanem przedcukrzycowym, może sugerować, iż na pierwszych etapach rozwoju cukrzycy typu 2 insulinooporność dotyczy narządów innych niż mięśnie szkieletowe.

W podsumowaniu, doktorant przedstawił znakomicie przygotowaną i przeprowadzoną pracę, opartą o bardzo racjonalne założenia, wymagająca zastosowania najnowocześniejszych technik badawczych, ogromnego nakładu pracy. Należy podkreślić, iż każdy z genów, co do których doktorant wykazał zmiany w ekspresji zależne od wysiłku fizycznego, potencjalnie może służyć poznaniu nowych szlaków patogenezy cukrzycy typu 2 czy może nawet stworzenia efektywniejszej farmakoterapii. Bardzo ważna jest zdecydowanie sformułowana konkluzja, iż jedną z różnic pomiędzy stanem przedcukrzycowym a cukrzycą typu 2 jest różnica w profilu narządowej insulinooporności. Wreszcie praca stanowi kolejny dowód na skuteczność interwencji polegającej na zwiększeniu aktywności fizycznej w przyczynowym leczeniu defektów prowadzących do rozwoju cukrzycy typu 2. W podsumowaniu: praca w sposób realny poszerza naszą wiedzę na temat patofizjologii cukrzycy typu 2, potencjalnie ma daleko idące implikacje kliniczne.

Z obowiązku recenzenckiego pragnę zwrócić uwagę na dwie kwestie:

- pacjenci z cukrzycą typu 2 byli nieco starsi, niż osoby z grupy kontrolnej czy ze stanem przedcukrzycowym, różnica nie osiągnęła znamienności statystycznej, niemniej jednak numerycznie była dosyć duża (średni wiek dla osób z normoglikemią, stanem przedcukrzycowym i cukrzycą typu 2 wynosił odpowiednio 47.66, 47.58 i 54.75 lat). Wiek jest jednym z ważniejszych elementów wpływających na profil ekspresji genów związanych z pracą mięśni szkieletowych,

- ciekawa byłaby obserwacja transkryptomu po zaprzestaniu aktywności fizycznej, np. 2, 4 8 tygodni (dla oceny trwałości efekty wysiłku fizycznego w tym zakresie), rozumiem jednak, iż większość pacjentów za zaprzestaniu zasadniczej fazy badania, pozostała przy jakiejś aktywności fizycznej a nie zredukowała jej od razu do stanu wyjściowego

Końcowe wnioski oceniającego:

Ogólna ocena pracy na stopień doktora nauk medycznych lek. med. Łukasza Szczerbińskiego jest bardzo pozytywna, praca jest zdecydowanie ponadprzeciętna. Spełnia ona wszelkie warunki określone przez aktualną Ustawę o tytule naukowym i stopniach naukowych i wnioskuję o dopuszczenie przez Wysoką Radę Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. med. Łukasza Szczerbińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a także z pełnym przekonaniem wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Prof. Tomasz Klupa

Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych

Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Kopernika 15, 31-501 Kraków

Tel. 12-4248300

Kraków, 18.04.2019