

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Dorota Szostak-Węgierek

Zakład Dietetyki Klinicznej

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Beaty Zyśk pt:

**Poszukiwanie markerów stłuszczeniowej choroby wątroby
związanej z zaburzeniami metabolicznymi (MASLD)**

Rozprawa doktorska pani mgr Beaty Zyśk dotyczy poszukiwania markerów stłuszczeniowej choroby wątroby związanej z zaburzeniami metabolicznymi (MASLD). Jej podstawą jest cykl trzech publikacji o łącznej wartości Impact Factor 15,908 i łącznej liczbie punktów MEiN 420:

1. Publikacja nr 1 (P.1) – Zyśk B, Ostrowska L, Smarkusz-Zarzecka J. Salivary adipokine and cytokine levels as potential markers for the development of obesity and metabolic disorders. International Journal of Molecular Sciences 2021, 22: 11703; doi: 10.3390/ijms222111703.

IF=6,208; MEiN=140

2. Publikacja nr 2 (P.2) – Zyśk B, Ostrowska L, Smarkusz-Zarzecka J, Witczak-Sawczuk K, Gornowicz A, Bielawska A. Pro-inflammatory adipokine and cytokine profiles in the saliva of obese patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) - a pilot study. International Journal of Molecular Sciences 2023, 24: 2891; doi: 10.3390/ijms24032891.

IF=4,900; MEiN=140

3. Publikacja nr 3 (P.3) – Zyśk B, Ostrowska L, Smarkusz-Zarzecka J, Orywał K, Mroczo B, Cwalina U. Evaluation of the diagnostic utility of selected serum adipokines and cytokines in subjects with MASLD - a pilot study. Nutrients 2024, 16: 1381; <https://doi.org/10.3390/nu16091381>.

IF=4,800; MEiN=140

Rozprawę opisującą przebieg i uzyskane wyniki badań cechuje poprawna struktura podziału treści, na którą składa się wprowadzenie, opis celu pracy, materiał i metody, omówienie cyklu publikacji, opis ograniczeń badania, wnioski, piśmiennictwo (61 pozycji), załączone wymienione wyżej publikacje i inne dokumenty.

Wprowadzenie opisuje dane epidemiologiczne choroby otyłościowej, jej powikłanie w postaci stłuszczeniowej choroby wątroby związanej z zaburzeniami metabolicznymi (MASLD), metody diagnostyki tych chorób oraz funkcje metaboliczne tkanki tłuszczowej wpływające na stan zapalny i progresję MASLD do MSH i dalej do marskości wątroby.

Ponieważ brakuje prostych metod diagnostycznych umożliwiających wczesne wykrycie MASLD Doktorantka skupiła się na poszukiwaniu odpowiednich markerów. Postawiła hipotezę, że takimi parametrami diagnostycznymi, możliwymi do zastosowania w badaniach przesiewowych, mogą być stężenia wybranych adipokin i cytokin w surowicy i ślinie. Celami pracy były więc:

1. Ocena związku między zawartością i rozmieszczeniem tkanki tłuszczowej a rozwojem stłuszczenia wątroby.
2. Analiza korelacji wybranych adipokin i cytokin w surowicy u osób ze stłuszczeniową chorobą wątroby związaną z zaburzeniami metabolicznymi (MASLD).
3. Analiza korelacji wybranych adipokin i cytokin w ślinie u osób z MASLD.

W rozdziale poświęconym metodyce opisano sposób zbierania piśmiennictwa do artykułu poglądowego, kryteria włączenia i wyłączenia uczestników badania, a także sposób ich rekrutacji. Stan odżywienia badano metodą BIA, a pomiary stłuszczenia i sztywności wątroby metodą elastografii dynamicznej impulsowej z wykorzystaniem aparatu FibroScan 530 Compact. Doktorantka opisała też sposób pobierania krwi do badania i sposób uzyskania surowicy, w której wykonano badania biochemiczne, w tym stężenia adipokin i cytokin. Opisała też sposób pobierania śliny, w której później oznaczono stężenia adipokin i cytokin. Opisano też zastosowane metody analizy statystycznej. Opis materiału i metod nie budzi zastrzeżeń. Zasady doboru uczestników badania zostały opisane w sposób klarowny. Jasno przedstawiono zastosowane metody, które zostały trafnie dobrane.

W kolejnej części pracy Autorka omówiła cykl publikacji.

Publikacja P.1: „Salivary adipokine and cytokine levels as potential markers for the development of obesity and metabolic disorders” to praca przeglądowa, której celem było ustalenie czy ślina może być przydatna w diagnostyce choroby otyłościowej oraz jej wczesnych powikłań metabolicznych przy wykorzystaniu oznaczeń adipokin i cytokin w tym materiale badawczym. Analiza piśmiennictwa wykazała istotną statystycznie, dodatnią zależność między stężeniem rezystyny i adiponektyny w surowicy krwi a ich stężeniem w ślinie. Stało się to podstawą do postawienia hipotezy, że również inne adipokiny i cytokiny, oceniane w tych materiałach diagnostycznych mogą wykazywać wzajemną zależność. Analiza przeprowadzonych badań wykazała, że ocena stężenia TNF- α w ślinie może znaleźć zastosowanie w diagnostyce otyłości, gdyż odnotowano podwyższone stężenia omawianej cytokiny w przebiegu tej choroby. Dotychczasowe wyniki badań odnośnie pozostałych cytokin oraz adipokin są niejednoznaczne. Ponieważ potencjał diagnostyczny adipokin i cytokin w ślinie w kontekście MASLD nie był do tej pory oceniany, Doktorantka postanowiła więc tę lukę w wiedzy wypełnić.

Publikacja P.2: „Pro-inflammatory adipokine and cytokine profiles in the saliva of obese patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) – pilot study” to praca oryginalna. Wzięło w niej udział 96 pacjentów z chorobą otyłościową i 31 w grupie kontrolnej. Osoby z grupy badanej podzielono na 4 grupy na podstawie kryterium występowania stłuszczenia wątroby oraz stopnia jego zaawansowania. Stwierdzono wyższe mediany stężeń IL-1 β w grupach ze współistniejącym stłuszczeniem wątroby w porównaniu do grup bez stłuszczenia, a różnice pomiędzy grupami były istotne statystycznie. Ponadto wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy parametrem CAP a stężeniem tej cytokiny w ślinie. Doktorantka wyciągnęła wniosek, że można przypuszczać, że oznaczanie IL-1 β w ślinie może znaleźć zastosowanie w rozpoznawaniu NAFLD/MASLD. Podobne wyniki uzyskano dla stężeń rezystyny. Stwierdzono ponadto, że wraz ze wzrostem stopnia stłuszczenia wątroby zwiększało się istotnie stężenie MMP-2 w ślinie.

Publikacja P.3: „Evaluation of the diagnostic utility of selected serum adipokines and cytokines in subjects with MASLD – a pilot study” to również praca oryginalna. W badaniu wzięło udział 69 osób z chorobą otyłościową i 38 w grupie kontrolnej. Pacjenci zostali podzieleni według kryterium występowania MASLD w oparciu o najnowsze kryteria diagnostyczne. Stwierdzono istotne statystycznie różnice w stężeniach interleukiny-6 pomiędzy obiema grupami bez MASLD – z prawidłową masą ciała i otyłością, a także pomiędzy grupą z prawidłową masą ciała bez MASLD a grupą z otyłością i MASLD. Natomiast nie odnotowano

istotnych statystycznie różnic w stężeniu tej cytokiny pomiędzy obiema grupami z otyłością, zróżnicowanymi pod względem występowania MASLD. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniach pozostałych ocenianych adipokin, cytokin i żelatynaz pomiędzy ocenianymi grupami.

W analizie wieloczynnikowej stwierdzono występowanie zależności pomiędzy zwiększoną zawartością tkanki tłuszczowej i jej nieprawidłowym rozmieszczeniem, wyższymi wartościami wskaźnika insulinooporności oraz wyższymi stężeniami IL-6 i IL-1 β a rozwojem stłuszczenia wątroby. Doktorantka wyciągnęła słuszny wniosek, że te interleukiny mogą być prawdopodobnie przydatne w diagnostyce stłuszczenia wątroby: IL-6 u mężczyzn i kobiet, a IL-1 β tylko u kobiet. Analiza ROC wykazała, że punktem odcięcia dla całkowitej zawartości tkanki tłuszczowej związanym ze zwiększonym ryzykiem rozwoju stłuszczenia wątroby jest u kobiet 40,21%. U mężczyzn nie uzyskano znamienności statystycznej. Doktorantka wykazała jednak istnienie takiego punktu odcięcia u obu płci w przypadku pola tkanki tłuszczowej wisceralnej, u kobiet wyniósł on 156 cm², a u mężczyzn 155 cm². Podobne obserwacje dotyczyły wskaźnika VAT/SAT u kobiet i wskaźnika HOMA-IR u obu płci.

Wyniki uzyskane w obu badaniach Doktorantka przedyskutowała w odniesieniu do aktualnego piśmiennictwa. Wykazała przy tym dobrą znajomość zagadnienia i krytyczne podejście do własnych wyników. Podkreśliła konieczność prowadzenia dalszych badań w tym zakresie w celu potwierdzenia skuteczności otrzymanych punktów odcięcia w rozpoznawaniu MASLD. Jednoznaczne ustalenie miarodajnych punktów odcięcia może pomóc w identyfikacji pacjentów wymagających interwencji terapeutycznej, jeszcze przed wystąpieniem zaawansowanych zmian w wątrobie. W kolejnym rozdziale Doktorantka omówiła ograniczenia przeprowadzonego badania.

Całość rozprawy jest spójna. Na zakończenie Doktorantka wyciągnęła 5 dobrze uzasadnionych wynikami badania wniosków. Piśmiennictwo jest dobrze dobrane, wyczerpujące i obejmuje aktualne publikacje dotyczące badanego zagadnienia. Praca pod względem formalno-językowym, stylistycznym i interpunkcyjnym napisana jest prawidłowo. Wartość pracy, którą oceniam bardzo wysoko. Należy podkreślić, że praca stanowi istotny wkład i głos w dyskusji dotyczącej możliwości diagnostycznych występowania i progresji MASLD.

Mam pytanie do Doktorantki: Czym można wytłumaczyć istnienie niższych punktów odcięcia dla zawartości tkanki tłuszczowej dotyczących jej wpływu na metabolizm, między Azjatami a Europejczykami?

Podsumowanie

Wartość merytoryczną rozprawy oceniam bardzo wysoko. Jej problematyka jest trafnie dobrana. Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka wysunęła kilka dobrze udokumentowanych wniosków. Analizowany przez Doktorantkę problem i wyciągnięte wnioski są ważne z punktu widzenia diagnostyki MAFLD.

Na podstawie analizy całości rozprawy doktorskiej można stwierdzić, że pani mgr Beata Zyśk cechuje się dużą samodzielnością w prowadzeniu badań naukowych, analizowaniu ich wyników i wyciąganiu wniosków. Wykazuje też dużą wiedzę na temat analizowanego problemu klinicznego.

Rozprawa pani mgr Beaty Zyśk spełnia warunki określone w art. 187 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz.U. 2018 poz. 1668 ze zm. i wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie pani mgr Beaty Zyśk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Dorota Szostak-Węgierek