



Prof. dr hab. Ewa Stachowska  
Zakład Żywienia Człowieka i Metabolomiki  
Pomorski Uniwersytet Medyczny  
w Szczecinie

Szczecin 10 08. 2023

### **Recenzja rozprawy doktorskiej Damiana Pogodzińskiego**

#### **”Ocena wpływu zmienności SNP genu desaturazy stearioilo-CoA (SCD) jądrowego DNA i genu *MT-ATP6* mitochondrialnego DNA na zmienność fenotypową tkanki tłuszczowej podskórnej oraz trzewnej”**

Otyłość jest złożoną chorobą metaboliczną, wykazującą znaczną heterogenność, zarówno pod względem fenotypowym, jak i genotypowym. Wiemy, że genetyczne uwarunkowanie choroby otyłościowej jest złożone i nie jest warunkowane najczęściej przez pojedynczy „super gen”. Ta sytuacja skłania badaczy do poszukiwania genów i ich polimorfizmów składających się na wielogenowy obraz otyłości.

Do grona najlepiej poznanych genów powiązanych z otyłością należą: *FTO*, gen kodujący perylipinę *PLIN* czy gen kodujący czynnik genetyczny *STAT 3*.

#### **Oryginalność problemu badawczego**

Geny wytypowane do badań przez Doktoranta czyli gen *MT-ATP6* mitochondrialnego DNA i desaturaza stearioilo-CoA (*SCD*) wpisują się w obszar mniej poznanych czynników genetycznych warunkujących otyłość. Dla przykładu, przy wielu pracach naukowych opisujących funkcje genu *MT – ATP 6* (ponad 230) – jest tylko 8 prac wiążących *MT-ATP6* z chorobą otyłościową. W bazie medycznej PUBMED publikacje dotyczące powiązań otyłości i funkcji tego genu obejmując 2 prace w ciągu ostatnich 5 lat i 1 w ciągu ostatniego. W porównaniu z nim, kolejny gen który był wyborem Doktoranta - *SCD*, wydaje się być „weteranem” w badaniach nad otyłością - z ponad 200 prac dotyczących roli genu *SCD* w otyłości ponad 65 prac opublikowano w ostatnich 5 latach a 7 w okresie ostatniego ( 2022) roku

Wydaje się, że dobór obszaru badań przez Doktoranta– szczególnie genu *MT-ATP6* w kontekście choroby otyłościowej jest trafny i oryginalny.



## Znaczenie problemu badawczego

Pomimo wieloletnich badań nad genetycznym podłożem otyłości nadal pozostaje wiele obszarów do zbadania np. w obszarze zmienności wynikających z mutacji pojedynczego nukleotydu. Praca Doktoranta wpisuje się w ten nurt badań biorąc na cel:

1. Oszacowanie zmienności genu *MT-ATP6* mtDNA oraz stopnia spokrewnienia u pacjentów z różnym stanem odżywienia,
2. Znalezienie zależności genetycznych w genie *MT-ATP6* mtDNA a fenotypami ozmieszczenia brzusznej tkanki tłuszczowej (TOFI; FOTI),
3. Określenie występowania alleli genu *SCD* - SNP rs7849 u osób z różnym stanem odżywienia oraz fenotypem rozmieszczenia brzusznej tkanki tłuszczowej (TOFI; FOTI),
4. Analizę wpływu obecności allelu C, genu *SCD* w SNP rs7849 na gospodarkę węglowodanową i lipidową.

Zabrakło w opisie charakterystyki którego genu dotyczy badany polimorfizm - SNP rs7849 . Oczywiście informacja, o tym że jest to polimorfizm genu *SCD* pojawia się w dalszej części pracy, niemniej jednak bark tej informacji podczas określenia celu badań powinien być uzupełniony.

## Oryginalność i trafność metod oraz narzędzi badawczych

### Układ pracy

Praca ma układ typowy, pierwsza część to **wstęp** napisany wyczerpująco, bardzo starannie i w oparciu o aktualną literaturę.

Na podkreślenie zasługuje czytelny i aktualny opis rodzajów tkanki tłuszczowej z podziałem na białą, zawartą w szpiku kostnym, brązową, beżową i co warte podkreślenia **różową** tkankę tłuszczową. Szczególnie ta ostatnia jest mało poznana i rzadko opisywana i wyodrębniana, dlatego jej charakterystyka ujęta w pracy doktorskiej jest cenna.



Na podkreślenie zasługuje bardzo płynna forma omawianych treści – zaplanowanych tak by sukcesywnie wprowadzać czytelnika w tematykę badania.

**Część cele pracy** – sformułowane prawidłowo choć zabrakło hipotezy badawczej oraz opisu którego genu dotyczy badany polimorfizm.

#### **Część doświadczalna-**

A. Zabrakło narzędzia statystycznego którym posłużono się do oszacowania wielkości grup – badanej i kontrolnej. Zwykle do analizy używa się programu G Power 3.1 – jakich narzędzi użył Doktorant?

B. Brakuje mi opisu diety i aktywności fizycznej stosowanej przez pacjentów przed włączeniem do badań.

Wiem z doświadczenia, że zbieranie danych dotyczących stylu życia jest bardzo uciążliwe dla pojedynczej osoby- szczególnie w kontekście wielu analiz przeprowadzonych przez Doktoranta, ale dodatkowa analiza wpływu czynników środowiskowych byłaby niezwykle ciekawa.

Część dotycząca badań genetycznych została opisana przez Doktoranta wyczerpująco.

Reasumując, uważam, że Doktorant zrealizował cele ponieważ:

- dokonał analizy zmienności genu *MT-ATP6* mtDNA oraz stopnia spokrewnienia u pacjentów, wskazując na haplotypy H1 i H6 jako główne obserwowane w populacji jednak bez znaczących różnic genetycznych między haplotypami.

- wykazał, że fenotyp tkanki tłuszczowej brzusznej TOFI występował u 96% kobiet z otyłością i u 81% kobiet z prawidłową masą ciała i u 100% mężczyzn z grupy badanej i 90% z grupy kontrolnej! Natomiast korzystniejszy metabolicznie fenotyp FOTI Doktorant wykazał tylko u 4% kobiet z otyłością (19% (n=6) kobiet z prawidłową masą ciała i tylko jednego mężczyzn z prawidłową masą ciała!



Doktorant wskazał fenotypy charakterystyczne dla typu w badanej populacji TOFI (były nimi H1 i H6). Doktorant wykazał, że haplotypH6 reprezentowany były tylko przez fenotyp TOFI. Wśród fenotypów FOTI Doktorant wyróżnił haplotypy - H24, H33, H35, H40, H42, H49 i H50.

Doktorant dokonał także bardzo ciekawej zmienności parametrów biochemicznych krwi jakie obserwował między płciami w obydwu grupach, wykazując różnice w uzyskanych wynikach dla obydwu płci ( i grup)- np. zawartość cholesterolu.

- Określił występowania alleli w SNP rs7849 jako w grupie badanej i kontrolnej z fenotypem TOFI i z fenotypem FOTI. Pomimo zaobserwowanych ciekawych różnic między grupami i fenotypami różnice nie były istotne statystycznie, dla grup pacjentów z otyłością oraz prawidłową masą ciała.

-Zaobserwował, że pacjenci, którzy posiadają allel C genu *SCD* różnią się istotnie od innych wariantów pod względem parametrów lipidowych oraz glikemii: stężenia w surowicy krwi na czczo: cholesterolu HDL, cholesterolu LDL, stężenia triglicerydów, glukozy, zawartości insuliny oraz wskaźnika HOMA-IR.

Świetnym wynikiem uzyskanym przez Doktoranta jest wskazanie na wariant allelu C genu *SCD* (SNP rs7849) jako powiązanego z niższymi stężeniami wybranych lipidów (i wyższym HDL), oraz glukozy, insuliny oraz niższym wskaźnikiem HOMA-IR.

Zgodnie z wynikami posiadanie wariantu allelu C *SCD* (rs7849) jest istotnym statystycznie czynnikiem różnicującym stężenia wybranych parametrów biochemicznych w surowicy krwi.

## **Wyniki i dyskusja**

Uzyskane wyniki zostały przedyskutowane przez Doktoranta z dużą swadą i dobrą znajomością tematu. Bardzo ciekawy wynik uzyskany przez Doktoranta a dotyczący haplotypów genu MT-ATP6, w grupie pacjentów z otyłością. Doktorant wydaje się



przechylać to tezy że poprzez większe zróżnicowanie haplotypowe genu MT-ATP6 w tej grupie może tłumaczyć większą podatność na otyłość ( poprzez pogorszone wydatkowanie energii na energię cieplną). Mam pytanie czy są jakiegokolwiek badania kliniczne (nie *in vitro*) dla leków stymulujących termogenezę z udziałem ludzi?

Czy Doktorant wie czy pacjenci stosowali suplementację kwasami Omega 3? Nie było tego punktu w kryteriach wyłączenia – a jak sam Doktorant zauważył te kwasy mogą wpływać na biogenezę mitochondrów

Świetnie poprowadzona dyskusja dotycząca i fenotypów otyłości i badanych genów- gratuluje. Czyta się ten fragment dyskusji z ogromną przyjemnością Nadal mi (jako dietetykowi) brakuje analizy czynników środowiskowych mogących wpływać na otoczenie genu. by sprawdzić, jak mutacje wpływają na kodowane.

Na podkreślenie zasługuje to, że Doktorant precyzyjnie potrafi określić dalsze badań (min. oksygraficzne, czy ekspresji genu w odpowiednich tkankach tłuszczowych, oczywiście zachowując podział na haplotypy) co pozwala dostrzec umiejętność krytycznego myślenia i potencjał naukowy drzemiący w tym młodym naukowcu.

### **Umiejętność krytycznej analizy danych - celująca**

Rozdział **Dyskusja** bardzo obszerny i nawiązujący do uzyskanych wyników. Doktorant bardzo krytycznie i w oparciu o literaturę umiejętnie przedyskutował uzyskane wyniki.

Pytania do dyskusji dotyczą głównie bardzo mocno zarysowanej różnicy między płciami.

1. Czy Doktorant może przedyskutować obecne możliwości stosowania leków aktywujących *de novo* biogenezę mitochondrialną?
2. Czy Doktorant widzi możliwość zastosowania postów przerwanych czy głodówek jako narzędzia do potencjalnej aktywacji mechanizmów biogenezę mitochondrialnej?



3. Jak Doktorant zapatruje się na kwestię systematycznej aktywności fizycznej i suplementacji dużymi dawkami kwasów omega 3 (ponad 250 mg/dziennie) w obydwu fenotypach rozmieszczenia tkanki tłuszczowej.
4. Brakuje mi także końcowego odniesienia czy uzyskane wyniki można implementować do praktyki dietetycznej /lekarskiej

Uwagi nie umniejszają celującej oceny pracy.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia wymagania z art. 13 ustawy 1 z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U z 2017 r poz.1789). Praca jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego, Doktorant wykazał się dobrą wiedzą dotyczącą zakresu otyłości i genetycznego tła otyłości a także umiejętnościami do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

**Wnoszę do Wysokiej Rady dyscypliny nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie *Damiana Pogodzińskiego* do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej**

**Z wyrazami szacunku**

---