



Prof. dr hab. n. med. Elżbieta Bandurska – Stankiewicz  
Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych  
Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego



**RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ  
MGR AGNIESZKI BIELSKIEJ**

**”Analiza profilu mikroRNA i identyfikacja potencjalnych biomarkerów diagnostycznych w surowicy u pacjentów ze stabilną chorobą niedokrwienną serca jako powikłanie cukrzycy typu 2”**

Cukrzyca typu 2 jest złożonym zaburzeniem metabolicznym, w które zaangażowanych jest wiele genów i ścieżek sygnałowych. Liczne badania donoszą, że T2DM jest niewątpliwym czynnikiem ryzyka pojawienia się choroby niedokrwiennej serca (IHD) oraz innych powikłań naczyniowych. Opracowanie nowych biomarkerów, które identyfikowałyby osoby z T2DM narażone na rozwój IHD, mogłoby usprawnić diagnostykę choroby zanim pojawią się pierwsze objawy niedokrwienia serca. Niekodujące cząsteczki miRNA pochodzące z płynów ustrojowych mogą pełnić rolę takich biomarkerów. Istnieją badania potwierdzające ważną rolę miRNA w rozwoju powikłań cukrzycy. Wykazano, że miRNA biorą udział w podziałach komórkowych, w różnicowaniu komórek, apoptozie, angiogenezie, regulacji szlaków metabolicznych i zapalnych. Te małe niekodujące cząsteczki RNA mogą również regulować procesy wydzielania insuliny, różnicowania komórek  $\beta$  wysp trzustkowych oraz metabolizmu glukozy i lipidów.

W świetle przedstawionych aktualnych danych piśmiennictwa należy podkreślić celowość wybranego tematu przedstawionej do oceny pracy doktorskiej pod kierunkiem prof. dr hab. Adama Krętowskiego.

Celem pracy była identyfikacja charakterystycznego profilu ekspresji miRNA w surowicy u pacjentów z T2DM i IHD oraz określenie przydatności diagnostycznej poprzez opracowanie modelu regresji logistycznej z użyciem zidentyfikowanych miRNA o zróżnicowanej ekspresji. Dodatkowym celem było określenie biologicznej funkcji tych miRNA poprzez identyfikację genów docelowych potencjalnie regulowanych przez wskazane cząsteczki miRNA oraz określenie ich biologicznej roli.

Do rozprawy doktorskiej autorka włączyła dwie prace:

**Praca przeglądowa:**

**Bielska, A.; Niemira, M.; Kretowski, A., Recent Highlights of Research on MiRNAs as Early Potential Biomarkers for Cardiovascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus.**

**Int. J. Mol. Sci. 2021, 22 (6), 3153. <https://doi.org/10.3390/ijms22063153>.**

**IF = 6.208**

**MNiSW = 140**

**Praca oryginalna:**

**Bielska, A.; Niemira, M.; Bauer, W.; Sidorkiewicz, I.; Szalkowska, A.; Skwarska, A.; Raczkowska, J.; Ostrowski, D.; Gugala, K.; Dobrzycki, S.; Krękowski, A., Serum MiRNA Profile in Diabetic Patients With Ischemic Heart Disease as a Promising Non-Invasive Biomarker., Front. Endocrinol. 2022, 13., <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.888948>.**

**IF = 6.055**

**MNiSW = 100**

**Łączny IF tych publikacji wynosi 12.263, a punktacja MNiSW wynosi 240.**

W pracy oryginalnej doktorantka zakwalifikowała 69 badanych do dalszych analiz wyodrębniając następujące podgrupy: chorych na T2DM z IHD, chorych na T2DM bez IHD, grupę pacjentów z IHD oraz grupę kontrolną bez T2DM i bez IHD. Zebrane próbki surowicy posłużyły jako materiał do oznaczenia profilu ekspresji miRNA w każdej z wybranych grup. Ekspresję miRNA profilowano przy zastosowaniu platformy nCounter firmy NanoString. Wyniki zostały zwalidowane metodą RT-qPCR w czasie rzeczywistym. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu STATISTICA oraz oprogramowania nSolver 4.0. Do analizy funkcjonalnej wykorzystano oprogramowanie Ingenuity Pathway Analysis, bazę STRING, programy Cytoscape, g:Profiler oraz Metascape. Wskazano sześć miRNA (miR-615-3p, miR-3147, miR-1224-5p, miR-5196-3p, miR-6732-3p i miR-548b-3p) istotnie różnicujących grupy pacjentów z T2DM i IHD od pacjentów z T2DM bez IHD. Analiza funkcjonalna wykazała, że geny regulowane przez wyznaczone miRNA uczestniczą w procesach prowadzących do dysfunkcji układu krążenia. Wszystkie zidentyfikowane miRNA mogą służyć jako nowe, nieinwazyjne biomarkery do wczesnego wykrywania IHD u pacjentów z T2DM. Klasyfikujący model diagnostyczny utworzony z użyciem regresji logistycznej opartej o miR-615-3p i miR-3147 najdokładniej odróżnia pacjentów T2DM z IHD od pacjentów z T2DM bez IHD (AUC= 0,935).

W przedstawionej do recenzji pracy doktorantka sformułowała następujące wnioski:

1. Podwyższona ekspresja sześciu miRNA pochodzących z surowicy (miR-615-3p, miR-3147, miR-1224-5p, miR-5196-3p, miR-6732-3p i miR-548b-3p) stanowi specyficzny profil charakterystyczny tylko dla grupy pacjentów T2DM IHD.
2. Cząsteczki miR-615-3p i miR-3147 miały najbardziej podwyższoną ekspresję w surowicy pacjentów T2DM IHD w porównaniu do pacjentów T2DM bez IHD.
3. Analizy bioinformatyczne wykazały, że wytypowane miRNA oraz geny przez nie regulowane uczestniczą w ścieżkach i procesach prowadzących do dysfunkcji układu krążenia i rozwoju IHD u pacjentów z T2DM.
4. Wszystkie wytypowane cząsteczki miRNA mają wysoką czułość oraz wysoką swoistość i potencjalnie mogą służyć jako nowe, nieinwazyjne biomarkery do wczesnego wykrywania IHD u pacjentów z T2DM.
5. Klasyfikujący model diagnostyczny, utworzony z użyciem modelu regresji logistycznej na podstawie poziomu ekspresji tylko dwóch cząsteczek miRNA, miR-615-3p oraz miR-3147, różnicuje pacjentów T2DM z IHD od pacjentów T2DM, ale bez IHD, z wyższą swoistością i czułością niż każde miRNA ze zróżnicowaną ekspresją, analizowane pojedynczo. Zastosowanie zestawu składającego się jedynie z dwóch biomarkerów miRNA jest ogromną szansą na stworzenie nieinwazyjnego testu diagnostycznego do szybkiej i efektywnej diagnostyki powikłań sercowo-naczyniowych u pacjentów z T2DM. Jest to szczególnie korzystne w aspekcie prowadzenia diagnostyki w badaniach przesiewowych oraz wdrożenia skutecznego leczenia na bardzo wczesnym etapie choroby.

Odnosząc się do wniosków końcowych należy podkreślić, że zaprezentowane przez doktorantkę wnioski stanowią odpowiedź na postawione cele. Wnioski są zwarte i sformułowane poprawnie.

Reasumując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Agnieszki Bielskiej spełnia wszystkie wymagania ustawowe stawiane pracy doktorskiej i wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Agnieszki Bielskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

Prof. dr hab. n. med. Elżbieta Bandurska – Stankiewicz

KIEROWNIK  
Kliniki Endokrynologii, Diabetologii  
i Chorób Wewnętrznych  
*[Podpis]*  
prof. dr hab. n. med. Elżbieta Bandurska-Stankiewicz

