

The review
of the doctoral dissertation by
Gladys E.P. Wojciechowska, M.A.

Entitled:

” Predicting Type 2 Diabetes remission after sleeve gastrectomy using clinical data,
circulating microRNA and machine learning approach”

The aim of the study was to profile pre-surgery serum miRNA from sleeve gastrectomy patients with T2DM and develop prediction models using baseline clinical and miRNA data to predict T2DM remission after surgery.

The manuscript consists of 89 pages. The dissertation is based on two previously published papers, the Review one and Original one.

The structure of the manuscript is as follows: List of abbreviations (page 7), List of publications (page 8), PhD candidate academic achievements (page 9), Introduction (pages 10-14), Aims (page 15), Material and Methods (pages 16-20), Results (pages 21-32), Discussion (pages 32-35), Conclusions (page 36), Bibliography (pages 37-43), Review article (pages 44-63), Original article (pages 64-76), Consent from the Bioethics Committee (pages 77-79), Statements (pages 80-89).

The subject of the study was chosen very well. During the last decades, obesity has reached epidemic scale leading to the dramatic increase in the global burden of obesity-related comorbidities. Overall and visceral adiposity are implicated in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus (T2DM) and hence, epidemiological trends for obesity are paralleled by a propensity towards a higher prevalence of T2DM. The causal link between excess body weight and T2DM is such that they are often viewed as a joint burden, composing the global epidemic of “diabesity”. The pathophysiology of T2DM consists of impaired insulin production by the pancreas and the ineffective use of insulin in the liver and periphery. 90% of

all T2DM patients have excess body weight, which is associated with an increased likelihood of developing complications such as hypertension and cardiovascular disease . The risk of developing T2DM is directly related to an individual's body mass index (BMI). For Caucasian populations this risk can range from 2%, for BMI 25 to 29.9 kg/m², to 13%, for BMI >35 kg/m². There is a continuous relationship between weight loss and the consequent improvement in glycemic levels and the probability of T2DM remission.

Bariatric surgery was originally intended for weight reduction only but was added later as a treatment option by the American Diabetes Association (ADA) for the management of obese diabetics in 2009 . By 2011, it was recognized by the International Diabetes Foundation (IDF) within their position statement as a treatment option for T2DM and obesity. Even though the therapeutic benefits of the different types of bariatric surgery in T2DM are clear, the factors predictive of post-surgery diabetes resolution are not so clear; data from the literature are not without controversy. We must also consider that these procedures can be irreversible and are not free of short- and long-term complications. Furthermore, although a considerable rate of improvement is obtained, not all patients achieve remission. Thus the proper selection for the bariatric surgery is of essential importance, and the role of the prediction models related to the outcomes of the procedures is hard to be overestimated.

As mentioned before, the dissertation is based on two manuscripts. After the general introduction into the subject, the PhD candidate refers to those manuscripts in details.

In the first paper, described by PhD candidate as a review paper, being actually a meta-analysis (Langi G et al. Meta-Analysis of Differential miRNA Expression after Bariatric Surgery, *J. Clin. Med.* 2019, 8, 1220; doi:10.3390/jcm8081220), the authors conducted a systematic summary of studies comparing microRNA expression levels before and after surgery. They identified 17 animal model and human studies from four databases to be enrolled into meta-analysis. From these studies, the authors identified 14 miRNAs which had the same direction of modulation of their expression after surgery in at least two studies. Pathway analysis for these miRNAs was done using database resources and their predicted target genes were discussed in relation with obesity and its comorbidities. The methodology of the analysis was very professional, the scientific questions to be addressed were chosen very well, the conclusions are of scientific importance. The paper was published at the journal of IF 4.242 for the time of publication, the current IF is 4.964.

In the second paper (Wojciechowska G et al. Exploring microRNAs as predictive biomarkers for type 2 diabetes mellitus remission after sleeve gastrectomy: A pilot

study. *Obesity* (Silver Spring). 2022;30:435–446), the authors aimed to evaluate microRNAs as predictive biomarkers for type 2 diabetes remission 12 months after sleeve gastrectomy. A total of 179 serum miRNAs were profiled, and 26 clinical variables were collected from 46 patients. A total of 26 out of 38 patients achieved T2D remission 12 months after sleeve gastrectomy. The authors have found that the prediction model with only clinical variables misclassified two patients, which were correctly classified using miRNAs. The best miRNA model was a mixed model containing four miRNAs and four clinical variables (T2D medication, sex, age, and fasting blood glucose). These miRNAs are involved in pathways related to obesity and insulin resistance. The authors concluded that 4 serum miRNAs might be predictive biomarkers for T2D remission 12 months after sleeve gastrectomy, but further validation studies are needed. This is an example of perfectly designed and very well conducted study with extremely important potential clinical value. The study has some limitations like limited sample size, focusing just on one type of bariatric surgery, using relatively small profiling platform, but all those issues were well addressed in the discussion paragraph. It should be underlined that the paper was published in the very prestigious journal which IF was 5.003 for the time of publication, the current IF is 9.298, the journal is ranked 14/148 (*Endocrinology & Metabolism*) and 5/90 (*Nutrition & Dietetics*).

In summary, the author presented very well designed and conducted study, based on rational assumptions, requiring the usage of advanced technologies, and also requiring lot of labwork. However, the most important advantage of the dissertation, in the subjective view of the reviewer, is scientific hypothesis of potentially very important value. The reading of the dissertation, especially in the part related to the original paper, was an intriguing process ending with scientific satisfaction.

At the end of my review I would like to rise one minor issue: the review paper was published in the journal by MDPI editorial office, journals published by MDPI are close to so called “predatory journals”, but in the view of current regulations it is just an informal comment.

Final conclusions

The general assessment of the doctoral dissertation is highly positive, and I recommend the Senate of the Medical University in Białystok to allow Gladys E.P. Wojciechowska, M.A to proceed for the further steps of the doctoral title conferment procedure. I also strongly believe that the doctoral thesis by Gladys E.P. Wojciechowska, M.A is worth honorable mention, based

on the very well formulated scientific question and taking under consideration very prestigious journal were the key article was published.

Prof. dr hab. Tomasz Klupa
Specjalista Chorób Wewnętrznych I Diabetologii
3055651
Kraków, Do Wilgi 22/44
Tomasz Klupa

Prof. Tomasz Klupa, M.D., PhD

Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych

Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Jakubowskiego 2, 30-688 Kraków

Tel. 12-4003562

Kraków, 14.07.2022

Recenzja

Rozprawy doktorskiej

Mgr Gladys E.P. Wojciechowskiej

” Predicting Type 2 Diabetes remission after sleeve gastrectomy using clinical data, circulating microRNA and machine learning approach”

Celem pracy była próba profilowania przedzabiegowego miRNA u pacjentów z cukrzycą typu 2 poddawanych procedurze rękawowej resekcji żołądka (SG) z wytworzeniem modeli predykcyjnych uwzględniających zarówno dane kliniczne jak i profil miRNA dla przewidywania szans uzyskania remisji cukrzycy w tej grupie chorych.

Praca liczy 89 stron. Dysertacja opiera się na dwóch opublikowanych wcześniej pracach, jednej poglądowej i jednej oryginalnej.

Struktura manuskryptu jest następująca: Lista skrótów (strona 7), Lista publikacji (strona 8), Osiągnięcia doktorantki (strona 9), Wprowadzenie (strony 10-14), Cele (strona 15), Materiał i Metody (strony 16-20), Wyniki (strony 21-32), Dyskusja (strony 32-35), Wnioski (strona 36), Piśmiennictwo (strony 37-43), Artykuł poglądowy (strony 44-63), Artykuł oryginalny (strony 64-76), Zgoda Komisji Bioetycznej (strony 77-79), Oświadczenia współautorów (strony 80-89).

Temat badania został wybrany bardzo dobrze. W ostatnich latach problem otyłości przybrał rozmiar epidemii prowadząc do dramatycznego przyrostu zachorowań na jednostki chorobowe związane z otyłością lub będące jej konsekwencją. Otyłość jako taka, a w szczególności otyłość trzewna, odgrywają szczególną rolę w patogenezie cukrzycy typu 2 (T2DM) i stąd zbieżność pomiędzy narastającym trendem rozwoju otyłości i cukrzycy typu 2. Związek patogenetyczny cukrzycy i otyłości jest na tyle ścisły, iż coraz częściej mówi się o tych dwóch schorzeniach jako o wspólnym problemie używając nierzadko określenia “diabesity”. Patofizjologia rozwoju cukrzycy typu 2 związana jest z dwoma zasadniczymi defektami: defektem w zakresie wydajności komórek beta trzustki oraz zmniejszeniem wrażliwości tkanek obwodowych na insulinę. 90% wszystkich pacjentów z cukrzycą typu 2

charakteryzuje się nadmierną masą ciała, co z kolei związane jest ze zwiększonym ryzykiem rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy, w tym powikłań makronaczyniowych takich jak nadciśnienie tętnicze czy schorzenia układu sercowo-naczyniowego. Ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2 ściśle koreluje ze wskaźnikiem masy ciała BMI – dla populacji kaukaskiej to ryzyko waha się pomiędzy 2%, dla BMI od 25 do 29.9 kg/m², a 13%, dla BMI >35 kg/m². Obserwuje się ścisły, liniowy związek pomiędzy redukcją masy ciała a poprawą parametrów glikemicznych, w tym, w pewnych przypadkach uzyskaniem remisji cukrzycy

Chirurgia bariatryczna powstała jako dziedzina kliniczna z myślą przede wszystkim o leczeniu otyłości, natomiast wyjątkowo korzystne metabolicznie skutki zabiegów bariatrycznych spowodowały, iż już w roku 2009 Amerykańskie Towarzystwo Diabetologiczne (American Diabetes Association) uznało zabiegi bariatryczne za jeden ze skutecznych sposobów leczenia cukrzycy u chorych otyłych. Podobne stanowisko zajmuje od roku 2001 Międzynarodowa Fundacja dla Cukrzycy (International Diabetes Foundation). Chociaż efekty metaboliczne różnego rodzaju zabiegów bariatrycznych są niepodważalne, to jednak zakres ich efektywności, na przykład w obszarze długotrwałego uzyskiwania remisji cukrzycy, jest heterogeny, literatura naukowa i kliniczna pełna jest w tym zakresie kontrowersji. Trzeba przy tym podkreślić, iż zabiegi bariatryczne mają charakter nieodwracalny, nie są pozbawione krótko i długoterminowych powikłań i działań niepożądanych. Choć większość pacjentów po zabiegach bariatrycznych uzyskuje poprawę w zakresie parametrów metabolicznych, nie wszyscy z nich uzyskują remisję cukrzycy. Dlatego kluczowe znaczenie ma efektywne klinicznie typowanie pacjentów do zabiegów bariatrycznych, a modele predykcyjne, które umożliwiłyby wyselekcjonowanie pacjentów o największych szansach na uzyskanie remisji, są trudne do przecenienia.

Jak wspomniano powyżej, dysertacja oparta jest o 2 manuskrypty. Po obszernym wstępie, doktorantka szczegółowo nawiązuje do tych dwóch artykułów.

W pierwszym z artykułów, opisanych przez doktorantkę jako praca pogładowa, będąca de facto metaanalizą (Langi G et al. Meta-Analysis of Differential miRNA Expression after Bariatric Surgery, *J. Clin. Med.* 2019, 8, 1220; doi:10.3390/jcm8081220), autorzy przeprowadzili systematyczne podsumowanie badań porównujących poziomy ekspresji mikroRNA przed i po zabiegu bariatrycznym. Zidentyfikowali 17 badań spełniających kryteria wstępne na modelach zwierzęcych i badaniach na ludziach z czterech baz danych, które to badania następnie zostały włączone do metaanalizy. Na podstawie tych badań autorzy zidentyfikowali 14 miRNA, które miały ten sam kierunek modulacji ekspresji po operacji w co najmniej dwóch badaniach. Analizę szlaków metabolicznych o potencjalnym związku z

patogenezą cukrzycy dla tych miRNA przeprowadzono przy użyciu odpowiednich zasobów bazy danych, a ich przewidywane geny docelowe omówiono w odniesieniu do otyłości i jej chorób współistniejących. Metodologia analizy była bardzo profesjonalna, pytania naukowe zostały bardzo dobrze dobrane, wnioski mają duże znaczenie naukowe i poznawcze. Artykuł został opublikowany w czasopiśmie, którego wskaźnik oddziaływania na czas publikacji wyniósł IF 4.242, natomiast aktualny wynosi 4.964.

W drugim z artykułów (Wojciechowska G et al. Exploring microRNAs as predictive biomarkers for type 2 diabetes mellitus remission after sleeve gastrectomy: A pilot study. *Obesity (Silver Spring)*. 2022;30:435–446), autorzy jako pierwszorzędowy cel analizy przyjęli ocenę mikroRNA jako predykcyjnych biomarkerów remisji cukrzycy typu 2 po 12 miesiącach od rękawowej resekcji żołądka. W sumie sprofilowano 179 miRNA w surowicy i zebrano 26 zmiennych klinicznych od 46 pacjentów. Łącznie 26 z 38 pacjentów osiągnęło remisję cukrzycy typu 2 po 12 miesiącach od rękawowej resekcji żołądka. Autorzy stwierdzili, że model predykcyjny zawierający tylko zmienne kliniczne błędnie sklasyfikował dwóch pacjentów, którzy zostali prawidłowo sklasyfikowani kiedy dodatkowo w modelu predykcyjnym użyto miRNA. Najbardziej efektywnym modelem predykcyjnym z zastosowaniem miRNA był model mieszany zawierający cztery miRNA i cztery zmienne kliniczne (leki stosowane w leczeniu cukrzycy, płeć, wiek i stężenie glukozy we krwi na czczo). Zidentyfikowane w trakcie badania i użyteczne w procesie modelowania miRNA biorą udział w szlakach metabolicznych związanych z otyłością i insulinoopornością. Autorzy doszli do wniosku, że cztery opisane miRNA w surowicy mogą być predykcyjnymi biomarkerami dla remisji T2D 12 miesięcy po rękawowej resekcji żołądka, ale potrzebne są dalsze badania walidacyjne. Jest to przykład doskonale zaprojektowanego i bardzo dobrze przeprowadzonego badania o niezwykle ważnej potencjalnej wartości klinicznej. Badanie te mają pewne ograniczenia, takie jak ograniczona wielkość próby, skupienie się tylko na jednym rodzaju chirurgii bariatrycznej, zastosowanie stosunkowo niewielkiej platformy profilowania miRNA, ale wszystkie te kwestie zostały dobrze omówione w odpowiednim akapicie w ramach dyskusji.

Należy podkreślić, iż praca została opublikowana w bardzo prestiżowym periodyku, którego wskaźnik oddziaływania (IF) na czas publikacji wynosił was 5.003, aktualnie wynosi 9.298, periodyk jest pozycjonowany bardzo wysoko w odpowiednich dziedzinach klinicznych, na pozycji 14/148 dla Endokrynologii i Metabolizmu, a na pozycji 5/90 dla Żywienia i Dietetyki.

Podsumowując, doktorantka przedstawiła bardzo dobrze zaprojektowane i przeprowadzone badanie, oparte na racjonalnych założeniach, wymagające użycia zaawansowanych technologii, a także wymagające dużego nakładu pracy. Jednak najważniejszą zaletą rozprawy, w subiektywnym spojrzeniu recenzenta, jest hipoteza naukowa o potencjalnie bardzo ważnej wartości naukowej i użytecznej. Lektura rozprawy, zwłaszcza w części dotyczącej pracy oryginalnej, była intrygująca i niosła dla czytającego prawdziwą satysfakcję naukową.

Do pracy nie mam poważniejszych uwag krytycznych. Chciałbym jedynie zwrócić uwagę, iż artykuł przeglądowy został opublikowany w czasopiśmie wydawnictwa MDPI, periodyki wydawane przez MDPI uważane są coraz częściej za tak zwane „periodyki drapieżne”, część instytucji naukowych zabrania finansowania publikacji w tych pismach. Należy jednak podkreślić, iż doktorantka w zakresie publikacyjnym spełniła wszystkie wymagania formalne, a wspomniany komentarz na charakter subiektywny.

Wnioski końcowe.

Ogólna ocena pracy doktorskiej jest bardzo pozytywna i zwracam się do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku dopuszczenie mgr Gładys E.P. Wojciechowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wyjątkowe zalety pracy, jeszcze raz pozwolę sobie podkreślić świetne postawienie pytania naukowego i klinicznego, opublikowanie pracy kluczowej dla dysertacji w bardzo prestiżowym periodyku medycznym, z pełnym przekonaniem wnoszę o wyróżnienie pracy.

Prof. dr hab. Tomasz Klupa
Specjalista Chorób Wewnętrznych i Diabetologii
3055651
Kraków, Do Wilgi 22/44

Prof. Tomasz Klupa, M.D., PhD

Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych

Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Jakubowskiego 2, 30-688 Kraków

Tel. 12-4003562

Kraków, 14.07.2022