

Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr Emilii Korek pt. „Ocena stężenia wybranych adipokin u pacjentów z otyłością”

#### 1. Formalna ocena pracy.

Przedstawiona do oceny praca doktorska jest napisana zgodnie z zasadami obowiązującymi dla tego rodzaju dysertacji. Jest obszerna, liczy 134 strony maszynopisu wraz z tabelami, rycinami, wykazem wykorzystanego piśmiennictwa oraz aneksem. Zawiera wstęp uzasadniający podjęcie badań w postaci przeglądu piśmiennictwa, związanego z tematem, określenie celu pracy, precyzyjnie opisane układy doświadczalne i metodykę analityczną, wyniki przedstawione w postaci tabeli i rycin, dyskusję i opis perspektyw dalszych badań, wnioski odpowiadające na postawione hipotezy badawcze oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. W pracy wykorzystano cytacje z bardzo obszernego, liczącego 252 pozycje piśmiennictwa. W początkowej części dysertacji zamieszczono wykaz skrótów, ułatwiający śledzenie tekstu. Praca jest napisana bardzo dobrym językiem polskim. Autorka potrafiła w jasny sposób przelać na papier swoją wiedzę, wyniki doświadczeń i przemyślenia.

#### 2. Merytoryczna ocena pracy.

Teoretyczne podstawy podjętych badań mgr Emilia Korek opisuje na podstawie wartościowych opracowań przeglądowych opublikowanych w trzech czasopismach, w tym istotnym dla nauk medycznych periodyku Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem.

W rozdziale „wstęp”, podrozdziale „wprowadzenie” Doktorantka uzasadnia celowość podejmowanych badań, wskazując związek aktywności tkanki tłuszczowej z coraz częściej występującym syndromem metabolicznym. Zwraca uwagę na rolę adipokin, w tym dwóch ostatnio poznanych: białka wiążącego retinol 4 (RBP4) oraz białka angiopoetynopodobnego 4 (ANGPTL4). Następnie omawia chronologicznie historię zainteresowania badaczy zagadnieniem otyłości wskazując, że już przez Hipokratesa uznana została za zagrażającą zdrowiu człowieka. Dalej Autorka opisuje postęp badań nad otyłością jako stanem budzącym

coraz większe zainteresowanie medyczne oraz rozwój metodyki diagnozowania i wreszcie historyczne obserwacje i badania, które stopniowo dowodziły związku nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej z coraz powszechniej występującymi chorobami cywilizacyjnymi jak cukrzyca i schorzenia układu krążenia. Opisowi towarzyszy bardzo czytelnie opracowana tabela przedstawiająca chronologicznie charakterystyczne punkty w historii otyłości od XVII wieku. Historia badań nad otyłością przedstawiona przez mgr E. Korek w dysertacji doktorskiej świadczy, że interesuje się Ona nie tylko bieżącymi zagadnieniami fizjologii, ale także przywiązuje należyłą wagę do historii medycyny.

W dalszej części wstępu Doktorantka wyczerpująco charakteryzuje otyłość jako przewlekłą chorobę ustrojową, zgodnie z definicją WHO. W tabeli 2 podaje aktualną klasyfikację otyłości. Ponadto opisuje podstawowe wskaźniki otyłości takie jak BMI, WHR, zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie. W tabelach 3, 4 i 5 zamieszczono odpowiednie wartości klasyfikacyjne. W tabeli 4. dotyczącej klasyfikacji wartości obwodu w talii podano wartości brzegowe dla populacji kaukaskiej, amerykańskiej, Bliskiego Wschodu oraz basenu Morza Śródziemnego i azjatyckiej. Brakuje wartości dla populacji europejskiej. Oczekuję na uzupełnienie podczas publicznej obrony pracy doktorskiej. Na stronie 23 zamieszczono dane dotyczące populacji polskiej m.in. oparte na badaniach NATPOL 2011. Doktorantka podaje, że są to dane niepublikowane, podczas gdy przy ich przytaczaniu cytuje publikację Jankowski i wsp. 2012. Ta drobna nieścisłość wymaga wyjaśnienia.

W kolejnym rozdziale „wstępu” scharakteryzowano podstawowe przyczyny otyłości. Autorka wskazuje, że w skomplikowanej etiopatogenezie otyłości znaczenia mają zarówno czynniki genetyczne jak i środowiskowe. Doceniając rolę predyspozycji genetycznych jednak zdecydowanie większą rolę w rozwoju otyłości odgrywają czynniki środowiskowe zewnętrzne i wewnętrzne. Pośród czynników zewnętrznych Doktorantka zwraca uwagę na niewłaściwe nawyki żywieniowe, niski poziom aktywności fizycznej, czy niektóre czynniki emocjonalne. Pośród czynników wewnętrznych najistotniejszą rolę przypisuje się zakłóceniu funkcjonowania ośrodkowego układu regulacji pobierania pokarmu. Udział podwzgórza w tym mechanizmie Autorka w skrócie, ale prawidłowo opisała.

W końcowej części wstępu mgr Emilia Korek charakteryzuje tkankę tłuszczową, jako ważnego źródła hormonów-adipokin, wskazując, że szczególne zainteresowanie tym zagadnieniem zapoczątkowało odkrycie w 1994 roku leptyny i jej działania jako peptydu ograniczającego pobieranie pokarmu. Autorka podaje, że peptyd uczestniczy w długoterminowej kontroli przyjmowania pokarmu. Jednak jak wiadomo, mimo, że poziom leptyny we krwi jest znacząco wyższy u osób otyłych, to wcale nie ogranicza to apetytu. Jest

to ciekawe zagadnienie i dobrze byłoby, aby Doktorantka skomentowała ten fakt podczas publicznej obrony pracy doktorskiej.

Odkrycie leptyny zapoczątkowało identyfikację i wszechstronne badania nad działaniem innych adipokin. Rozwój badań nad endokrynną funkcją tkanki tłuszczowej mgr Emilia Korek opisała w dalszej części tekstu. W tym fragmencie zamieściła także bardzo dobrze opracowaną tabelę (10) przedstawiającą funkcje fizjologiczne wybranych adipokin oraz kontrowersje wynikające z przeprowadzonych badań. W końcowej części wstępu Doktorantka szczegółowo charakteryzuje adipokiny, będące przedmiotem badań niniejszej dysertacji.

Opracowany przez mgr Emilię Korek przegląd piśmiennictwa jest związany z tematem pracy. Rozdział ten wskazuje na bardzo dobre teoretyczne przygotowanie Kandydatki do realizacji celów, które zamierzała osiągnąć w ramach wykonywanych badań. Zamierzenia te sprecyzowano w rozdziale „Założenia i cele pracy”. Założono, że RBP4 i ANGPTL4 wykazują związek ze stanem odżywienia oraz wpływają na metabolizm lipidowo-węglowodanowy. Hipotezę oparto na opublikowanych wcześniej wynikach badań, sugerujących, że ww. adipokiny mogą stanowić potencjalne ogniwo łączące otyłość z zaburzeniami metabolicznymi. W tekście rozprawy nie podano jednak, czy były to wstępne badania własne, czy opracowania innych badaczy (brak cytacji).

Materiał i metody opisano szczegółowo, w sposób możliwy do weryfikacji przez innych badaczy. Badaniami medycznymi objęto 60 pacjentów z otyłością (BMI powyżej 30) w tym 40 kobiet i 20 mężczyzn. Grupę kontrolną stanowiło 40 zdrowych ochotników (BMI poniżej 25 – 26 kobiet i 14 mężczyzn). W doborze pacjentów zastosowano restrykcyjne wykluczenia ze względu na jednostki chorobowe przewlekłe lub bezpośrednio lub pośrednio związane ze stwierdzonym zespołem metabolicznym. Zastanawia nieco fakt w jaki sposób udało się zrekrutować pacjentów z otyłością spośród osób będących pod opieką Poradni Nadciśnienia Tętniczego i Zaburzeń Metabolicznych, skoro przyczynami wykluczenia były jednostki chorobowe ściśle związane z profilem leczniczym poradni. Metodyka badań obejmowała wywiad lekarski z analizą dotychczasowej dokumentacji medycznej, badania przedmiotowe antropometryczne – masy ciała, wzrostu, pomiar obwodu talii i bioder, analizę składu ciała. U pacjentów z otyłością wykonywano pomiar ciśnienia tętniczego. Pomiaru ciśnienia nie dokonano u osób z grupy kontrolnej – dlaczego? Ponadto w próbkach krwi pobranych od pacjentów wykonano badania laboratoryjne próbek krwi obejmujące oznaczanie poziomu cholesterolu (w tym także w lipoproteinach), triglicerydów, glukozy a ponadto insuliny oraz adipokin będących przedmiotem badań przedstawianych w niniejszej

dysertacji tj RBP4, ANGPTL4, a także leptyny i greliny aktywnej. Wyniki zweryfikowano statystycznie stosując dla wykazania różnic pomiędzy grupami testy parametryczne lub nieparametryczne, w zależności od wcześniej zbadanej normalności rozkładu. Podsumowując zastosowaną metodykę badań należy stwierdzić, że została ona dobrze zaplanowana, jest wiarygodna i opisana szczegółowo, co umożliwi weryfikację przez innych badaczy. Ten rozdział świadczy o dobrym przygotowaniu warsztatowym oraz samodzielności Doktorantki przy stole laboratoryjnym.

Przeprowadzone doświadczenia pozwoliły na opracowanie rozdziału „wyniki”. Rezultaty badań mgr Emilia Korek przedstawiła w formie 23 tabel i 17 rycin. Większość rycin obejmuje wyniki wcześniej zamieszczone w tabelach i należałoby je pominąć podczas przygotowania pracy do druku. Ponadto nie wydaje się konieczne zamieszczenie tabel 35, 36, 37 w aneksie. Wyniki są tak samo istotne dla dysertacji jak tabele w tekście rozdziału i powinny się tu znaleźć, z pominięciem aneksu.

Analiza wyników badań wskazuje na:

1. Prawidłowy dobór pacjentów do badań. Grupa badana i grupa kontrolna różniły się statystycznie istotnie we wszystkich parametrach antropometrycznych, świadczących o otyłości.
2. Wartości większości parametrów antropometrycznych różniły się pomiędzy płciami.
3. Pacjentów z otyłością charakteryzował wyższy poziom badanych wskaźników gospodarki lipidowej, z wyjątkiem cholesterolu w HDL. Także poziom glukozy i insuliny był statystycznie istotnie podwyższony u osób otyłych, co skutkowało znacznie wyższym wskaźnikiem insulinooporności. Różnice pomiędzy płciami były niewielkie.
4. Stężenia RBP4 i ANGPTL4 we krwi u osób otyłych nie różniły się statystycznie istotnie pomiędzy badanymi grupami oraz kobietami i mężczyznami. Zastanawia nieco fakt, że poziom ANGPTL4 jest wyższy u mężczyzn otyłych, a niższy u kobiet z otyłością. Wprawdzie różnice te nie są istotne statystycznie, ale wartości średnie są wyraźnie różne.
5. Stężenia leptyny i greliny były wyraźnie wyższe u pacjentów otyłych, a także u kobiet z tej grupy w porównaniu z mężczyznami.
6. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem RBP4 oraz ANGPTL4 a parametrami antropometrycznymi i składem ciała w żadnej z badanych grup.
7. Stwierdzono negatywną korelację pomiędzy stężeniem RBP4 a koncentracją cholesterolu w lipoproteinach o wysokiej gęstości jedynie u osób z prawidłową masą ciała. Zależności takiej nie zaobserwowano dla ANGPTL4. Nie stwierdzono zależności pomiędzy poziomem ww. adipokin i parametrami gospodarki węglowodanowej.

8. Poziom adipokin nie był skorelowany z ciśnieniem tętniczym.

9. Nie obserwowano znaczących zależności pomiędzy stężeniem RBP4 i ANGPTL4, a leptyną i greliną.

Wyniki badań opracowano prawidłowo, przedstawiono w jasny i czytelny sposób, umożliwiając ich analizę.

Badania dotyczące roli adipokin w otyłości i rozwoju zespołu metabolicznego przynoszą rozbieżne wyniki. Mgr Emilia Korek, zdając sobie sprawę z tych kontrowersji, w rozdziale „dyskusja” zestawia swoje obserwacje z danymi publikowanymi przez innych badaczy. Rozdział jest obszerny, liczy 19 stron i został podzielony na podrozdziały odpowiadające poszczególnym analizowanym wynikom lub grupom wyników. Dyskusja jest prowadzona zgodnie z zasadami obowiązującymi dla opracowywania rozpraw naukowych. Analizując poszczególne wyniki Doktorantka najpierw dokonuje krótkiego wprowadzenia teoretycznego, uzasadniając badania własne. Następnie zestawia wyniki z danymi literaturowymi i przedstawia własne przemyślenia. Umiejętnie prowadzone przez mgr Emilię Korek rozważania świadczą o Jej dużej wiedzy w uprawianej dziedzinie, dużym oczytaniu i zdolności do wnioskowania. W tej części pracy Autorka stara się także tłumaczyć niektóre wyniki odbiegające od założonej hipotezy. Prace dotyczące roli RBP4 i ANGPTL4 w otyłości są do tej pory dość nieliczne i zawierają często bardzo różniące się wyniki. Różnice te wynikają zapewne z odmiennych warunków prowadzenia badań, w tym przede wszystkim różnego zaawansowania rozwoju syndromu metabolicznego u pacjentów. Autorka planując doświadczenie, zdecydowała się na objęcie badaniami osób otyłych, ale zasadniczo zdrowych. Podczas rekrutacji wykluczano pacjentów z jednostkami chorobowymi, charakterystycznymi dla syndromu metabolicznego jak m.in. nieprawidłowa glikemia na czczo, cukrzyca, klinicznie jawna choroba układu sercowo-naczyniowego, przewlekła choroba wątroby i nerek. Osoby otyłe uczestniczące w badaniach są jedynie (jeśli już) w początkowym okresie rozwoju chorób wynikających z nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej. Świadczą o tym podstawowe wskaźniki jak glikemia na czczo, poziom cholesterolu, triglicerydów, także wartości ciśnienia tętniczego, które mieszczą się w granicach normy lub tylko nieznacznie ją przekraczają. Stąd też zapewne wynika brak różnic w stężeniu adipokin we krwi pomiędzy grupą pacjentów z grupy kontrolnej i otyłych, na co Doktorantka zwraca uwagę prowadząc dyskusję. W końcowej części dyskusji mgr Emilia Korek wskazuje na czynniki, które potencjalnie były przyczyną jedynie niewielkich zmian badanych parametrów. Wymienia m.in. niski stopień otyłości u badanych pacjentów, którzy zasadniczo byli klinicznie zdrowi. Słusznie wnioskuje, że badania powinny być kontynuowane na pacjentach

z zaawansowanym syndromem metabolicznym. Krytyczne podejście do własnych badań i jasne określenie perspektywy dalszych prac jest cechą dojrzałego pracownika naukowego. O umiejętności właściwej interpretacji badań własnych świadczą też logiczne wnioski zamieszczone w końcowej części dysertacji. Wynika z nich jednoznacznie, że adipokiny RBP4 i ANGPTL4 nie mogą służyć jako wskaźniki przy predykcji początkowego stadium rozwoju zespołu metabolicznego. Jest to istotna informacja dla wiedzy o otyłości.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca doktorska została poprawnie zaplanowana metodycznie, wykonane zostały przewidziane badania, uzyskane wyniki odpowiednio zinterpretowano, dokonano szczegółowej konfrontacji z danymi literaturowymi oraz wyciągnięto prawidłowe wnioski. Praca spełnia warunki zawarte w Ustawie o tytule naukowym i stopniach naukowych z dnia 14 marca 2003 roku (ze zmianami) tzn. stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wskazuje na ogólną wiedzę teoretyczną Kandydata, a także na umiejętność prowadzenia pracy naukowej. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Emilii Korek do publicznej obrony pracy doktorskiej.

Jednocześnie biorąc pod uwagę logicznie zaplanowane badania, duży wkład pracy Doktorantki w ich przeprowadzenie, jasno przedstawione wyniki, prawidłowo przeprowadzoną dyskusję wyników i właściwe wnioskowanie, a przede wszystkim znaczenie teoretyczne i praktyczne dla badań nad otyłością człowieka, wnioskuję do Wysokiej Rady o stosowne wyróżnienie pracy doktorskiej.



Leszek Nogowski