



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

dr hab. n med. Edyta Pawlak-Adamska

Wrocław, dnia 22.02.2019

Laboratorium Immunopatologii

Zakład Terapii Doświadczalnej

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda

Polskiej Akademii Nauk

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Kolačková**

**„Polimorfizmy genu *FTO* a ilość i dystrybucja tkanki tłuszczowej oraz wybrane parametry metaboliczne u nieotyłych kobiet i mężczyzn oraz w grupie chorych na akromegalię”**

Promotor: *prof. dr hab. n med. Grażyna Bednarek-Tupikowska*

**z Katedry i Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami**

Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu



Przedstawiona do recenzji dysertacja mgr Katarzyny Kolačkov stanowi monotematyczny cykl 4 publikacji zatytułowany „Polimorfizmy genu *FTO* a ilość i dystrybucja tkanki tłuszczowej oraz wybrane parametry metaboliczne u nieotyłych kobiet i mężczyzn oraz w grupie chorych na akromegalię” w postaci tzw. zszywki (spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych). Cykl stanowią 2 publikacje oryginalne oraz 2 publikacje poglądowe.

Doktorantka w trzech publikacjach naukowych przedyskutowała tematykę związaną z zaangażowaniem polimorfizmów genu *FTO* (ang. *fat mass and obesity associated gene*) w etiopatogenezę i przebieg kliniczny otyłości - przeanalizowała związek zmienności polimorficznej genu *FTO* z ilością i dystrybucją tkanki tłuszczowej oraz wybranymi parametrami metabolicznymi u nieotyłych kobiet i mężczyzn:

1. Zdrojowy-Wełna A., Tupikowska M., **Kolačkov K.**, Bednarek-Tupikowska G. The role of fat mass and obesity-associated gene (*FTO*) in obesity - an overview. *Endokrynol Pol.* 2014, 65(3):224-31. doi: 10.5603/EP.2014.0031.
2. **Kolačkov K.**, Łaczmanski Ł., Bednarek-Tupikowska G. Wpływ polimorfizmów genu *FTO* na ryzyko otyłości. *Endokrynol. Otył. Zab. Przem. Mat* 2010, 6(2):101-107.
3. **Kolačkov K.**, Łaczmanski Ł., Lwow F., Ramsey D., Zdrojowy-Wełna A., Tupikowska M., Bednarek-Tupikowska G. The Frequencies of Haplotypes of *FTO* Gene Variants and Their Association with the Distribution of Body Fat in Non-Obese Poles. *Adv Clin Exp Med.* 2016, 25(1):33-42. doi: 10.17219/acem/60645.

oraz związek wybranych polimorfizmów genu *FTO* z ilością i dystrybucją tkanki tłuszczowej oraz wybranymi parametrami metabolicznymi w akromegalii:

1. Franczak A., **Kolačkov K.**, Jawiarczyk-Przybyłowska A., Bolanowski M. Association between *FTO* gene polymorphisms and HDL cholesterol concentration may cause higher risk of cardiovascular disease in patients with acromegaly. *Pituitary* 2018, 21(1):10-15. doi: 10.1007/s11102-017-0840-8.

Prace zostały opublikowane w ciągu ostatnich 9 lat, o łącznej punktacji IF= 4,902, MNiSW/KBN= 61 pkt. W dwóch z nich mgr. Katarzyna Kolačkov jest pierwszym autorem - w pracy poglądowej i jednej z prac oryginalnych stanowiących zasadniczą część osiągnięcia





naukowego Doktorantki. W pozostałych publikacjach Autorka jest zaangażowanym współautorem: drugim autorem w publikacji oryginalnej związanej z tematyką akromegalii oraz trzecim autorem w drugiej publikacji poglądowej.

Badania naukowe Doktorantki były przedmiotem dwóch tematów badawczych finansowanych ze środków Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Doktorantka pozyskała środki finansowe w ramach projektu badawczego dla młodych naukowców zatytułowanego „Polimorfizmy genu *FTO* a ilość i dystrybucja tkanki tłuszczowej oraz wybrane parametry metaboliczne u nieotyłych kobiet i mężczyzn”. Z kolei badania w grupie pacjentów z akromegalią sfinansowane zostały ze środków działalności statutowej Katedry i Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Recenzowana praca doktorska zawiera 21 stron opracowania własnego Doktorantki oraz publikacje naukowe wchodzące w skład cyklu.

Przedstawiona do oceny praca doktorska porusza istotny społecznie problem otyłości i nadwagi, będących poważnym problemem zarówno zdrowotnym jak i psychospołecznym o skali światowej. Szereg dobrze udokumentowanych badań naukowych wskazał złożoną etiopatogenezę otyłości z istotnym zaangażowaniem czynników genetycznych związanych zarówno z ryzykiem jak i przebiegiem klinicznym tego schorzenia. Od 2007 roku coraz większe zainteresowanie naukowe skoncentrowane jest wokół genu *FTO*.

We wstępie Doktorantka omówiła zarówno aspekt społeczny, jak i złożoną etiopatogenezę otyłości i nadwagi, która stanowi skomplikowaną sieć interakcji nie w pełni opisanych czynników genetycznych, molekularnych, środowiskowych jak i endogennych.

W poszukiwaniu czynników genetycznych zaangażowanych w patomechanizm analizowanych chorób Doktorantka wykorzystwała metodę analizy asocjacji z genem “kandydującym” (ang. *candidate gene*), potencjalnie zaangażowanym w patogenezę tych chorób. Doktorantka swoją uwagę badawczą skupiła wokół analizy związku zmienności polimorficznej genu *FTO* z otyłością metaboliczną osób z prawidłową masą ciała (ang. *metabolically obese normal-weight*, MONW). Prowadzone w ostatnich latach badania pozwoliły nieco lepiej, ale nie wystarczająco, zrozumieć patogenezę tej choroby. Dlatego też,





w mojej ocenie podjęty przez Doktorantkę nurt badań wskazuje na dużą intuicję naukową Doktorantki, bowiem patogeneza chorób cywilizacyjnych, do których należy otyłość, w ostatnich latach budzi duże zainteresowanie gremiów naukowych.

Dlatego też, w cyklu prac będących przedmiotem postępowania awansowego ocenie poddano wartość kliniczną wybranych polimorfizmów genetycznych zlokalizowanych w genie *FTO* z ilością i dystrybucją tkanki tłuszczowej oraz wybranymi parametrami metabolicznymi u nieotyłych kobiet i mężczyzn. Dodatkowo uzupełnieniem badań jest ocena zaangażowania polimorfizmów zlokalizowanych w genie *FTO* w etiopatogenezę i przebieg kliniczny akromegalii.

We wstępie Dyplomantka uzasadniła zasadność podjętych badań mających na celu próbę wyjaśnienia związku zmienności polimorficznej genu *FTO* z ryzykiem rozwoju otyłości metabolicznej przy prawidłowej masie ciała oraz wpływem na przebieg kliniczny schorzenia. Brakuje natomiast omówienia i uzasadnienia podjęcia badań w kontekście akromegalii. Co prawda w części „**Założenia i cel pracy**” Dyplomantka wspomina, iż wskazaniem do podjęcia próby oceny wartości klinicznej wybranych polimorfizmów genu *FTO*, ich zaangażowania w etiopatogenezę i przebieg kliniczny akromegalii było znacząco często obserwowane powikłania towarzyszące tej chorobie jakimi są choroby sercowo-naczyniowe. Jednakże dokładne omówienie zdecydowanie wzbogaciłoby ocenianą pracę doktorską.

Analiza patogenezy obu chorób: otyłości jak i akromegalii oraz dostępne doniesienia literaturowe dotyczące związku zmienności polimorficznej genu *FTO* z obu badanymi chorobami wskazały Doktorantce potrzebę oceny zaangażowania poszczególnych wariantów polimorficznych genu *FTO*. Ostatecznie Doktorantka do badań swoich wybrała cztery polimorfizmy typu SNP (ang. *single nucleotide polymorphism*, polimorfizm pojedynczego nukleotydu): rs9939609, rs9930506, rs1421085 oraz rs1121980. Interesującym aspektem, którego brakuje we wprowadzeniu przygotowanym przez Autorkę, byłoby opisanie lokalizacji wybranych do badań miejsc polimorficznych wraz z opisem ich potencjalnej funkcjonalności.

Autorka jasno i precyzyjnie określa założenia i cel podjętych prac. Ponadto wydzielenie dwóch celów szczegółowych świadczy o dobrej i przemyślanej organizacji oraz dogłębnym zrozumieniu podjętych badań. Realizując cel prac laboratoryjnych Dyplomantka opracowała i





zoptymalizowała metodę jednoczesnej analizy wybranych polimorfizmów SNP do czego wykorzystwała technikę wydłużania startera o nukleotyd znakowany fluorescencyjnie przy użyciu zestawu ABI PRISM® SNaPshot Multiplex Kit. Wybrana technika jest niezwykle precyzyjna i opracowana metoda jednoczesnej identyfikacji 4 polimorfizmów SNP świadczy o wysokich umiejętnościach technicznych i laboratoryjnych Pani mgr. Katarzyna Kolačkov.

Realizując kolejny cel szczegółowy, już bezpośrednio związany z oceną wartości klinicznej wybranych polimorfizmów, Dyplomantka szczegółowo przeanalizowała zaangażowanie wybranych czynników genetycznych zarówno w etiopatogenezę jak i przebieg kliniczny obu chorób.

Na szczególną uwagę zasługuje znacząca wielkość grupy pacjentów z akromegalią (n= 51). Udokumentowano bowiem, iż częstość występowania tej choroby szacuje się na około 70 przypadków na milion mieszkańców, a rocznie stwierdza się około 3–4 nowe zachorowania na 1 mln. Ponadto, akromegalię stwierdza się ze zbliżoną częstością u obu płci, najczęściej u osób w 4.–5. dekadzie życia [Bolanowski M. i wsp. *Endokrynologia Polska* 2014, 65(4):326–331.]. Obserwowana frekwencja kobiet w grupie zrekrutowanej do badań wynosiła 72,6%, mężczyzn 27,5%.

Ponadto wielkość drugiej niezależnie analizowanej grupy osób z prawidłową masą ciała zakwalifikowanych do badań (n= 854) była wystarczająca do przeprowadzanych analiz statystycznych.

Otrzymana zgodność częstości obserwowanych genotypów w poszczególnych miejscach polimorficznych z prawem Hardy-Weinberga świadczy o prawidłowym procesie rekrutacji jak i potwierdza prawidłową metodykę przeprowadzonych badań. Doktorantka wybrała również prawidłowy warsztat opracowania statystycznego otrzymanych wyników.

Dyplomantka nie wykazała związku badanych czynników genetycznych z ilością i dystrybucją tkanki tłuszczowej w grupie osób z MONW, wskazując być może na inny molekularny mechanizm gromadzenia tkanki tłuszczowej w tej grupie osób. Jest to niewątpliwa wskazówka do podjęcia dalszych badań celem wyjaśnienia tego zjawiska.

Zaobserwowała jednakże swoisty układ haplotypów cechujący populację Polską zamieszkującą zachodnią część kraju.



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKI HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

Z kolei analizując związek dwóch polimorfizmów zlokalizowanych w genie *FTO*: rs9930506 oraz 9939609 z parametrami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w akromegalii Dyplomantka zaobserwowała zależność pomiędzy poszczególnymi wariantami genetycznymi występującymi w obu SNP a poziomem cholesterolu HDL. Natomiast nie wykazała związku pomiędzy pozostałymi parametrami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych takimi jak: BMI, stężeniem glukozy, cholesterolu całkowitego, LDL i trójglicerydów a badanymi czynnikami genetycznymi.

Przeprowadzając analizy jednoczynnikowe omawianych markerów genetycznych Dyplomantka posługuje się pojęciem MAF (ang. *minor allele frequency*) używając polskiego sformułowania „allele ryzyka”. W istocie MAF wskazuje na allele występujące w populacji rzadziej (minor allele frequency = częstość alleli rzadkich).

Otrzymane przez mgr Katarzynę Kolačkov wyniki są bardzo interesujące i wnoszą znaczny wkład w dalsze zrozumienie patogenezы obu chorób.

Podsumowując uważam przedstawioną mi pracę za bardzo wartościową. Ponadto otrzymane przez Dyplomantkę wyniki badań wnoszą istotny wkład w rozwój wiedzy dotyczącej złożonej etiopatogenezy choroby będącej istotnym problemem społecznym jakim jest otyłość.

Rozprawa doktorska Pani Katarzyny Kolačkov spełnia wszystkie warunki stawiane pracom doktorskim w art.13 ustawy z dnia 74 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U- nr 65, poz. 595), z późniejszymi zmianami, w związku z czym wnioskuję o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

  
dr hab. w med. Edyta Pawlak-Adamska