

Dr hab. Albert Czerski prof. nadzw.
Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt
Zakład Fizjologii Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 22 październik 2019 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. biotechnologii Marzeny Gonerskiej pt.
„Wpływ polimorfizmów genów VAMP8, PON1, NOS3, MTHFR, na ryzyko zawału
mięśnia sercowego”.**

wykonanej w Katedrze Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem Pana dra hab. Tadeusza Sebzdy.

Podstawą formalną wykonania recenzji jest uchwała Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 26 września 2019 roku (nr uchwały 1016/09/2019).

Doktorantka w dysertacji podjęła tematykę wpływu polimorfizmu wybranych genów na ryzyko wystąpienia zawału mięśnia sercowego. Zawęziła swoje badania typując polimorfizm w czterech wybranych przez siebie genach. Temat zawału mięśnia sercowego jest aktualny i bardzo istotny dla rozwoju medycyny sercowo-naczyniowej, która to w dobie starzejącego się, otyłego społeczeństwa odgrywa coraz to większą rolę. Zawał mięśnia sercowego występuje również u osób nieobciążonych tradycyjnymi czynnikami ryzyka, czyli u osób młodych i szczupłych. Oczywiście częstość występowania jest mniejsza, ale istnieje potrzeba zweryfikowania czynników ryzyka wystąpienia zawału o nowe, osobnicze czynniki, będące rezultatem powszechnie występującego polimorfizmu genów.

Rozprawa doktorska ma typowy układ. Składa się ze: spisu treści, wstępu, założeń i celu pracy, materiału i metod, wyników, dyskusji, wniosków, streszczeń w języku polskim i angielskim, spisu ważniejszych oznaczeń i akronimów oraz bibliografii.

We wstępie dysertacji doktorantka próbuje podać aktualną definicję zawału mięśnia sercowego, uwzględniając niezbędne kryteria, które muszą zaistnieć. Wydaje się, że niefortunna gra słów, którą stosuje Pani Marzena we wstępie pracy powoduje zbyt niejasne zamieszanie, przez co definicja zawału mięśnia sercowego podana przez doktorantkę jest niejasna. Stylistyka, jak również ciągłość myślowa zdań, warta jest uporządkowania. Może podać prostą definicję zawału. Zawałem mięśnia sercowego nazywamy stan martwicy

mięśnia sercowego spowodowany jego niedokrwieniem wskutek zamknięcia tętnicy wieńcowej doprowadzającej krew do serca. Następnie rozwinąć ją o czynniki powodujące zawał, jak również kryteria jakie muszą zaistnieć, aby zdiagnozować zawał.

W dalszej części wstępu opisane jest powiązanie choroby niedokrwiennej serca z genomem człowieka i wykazanie, że do chwili obecnej ponad 160 *loci* związanych jest z chorobą niedokrwinną serca. Jednak oddziaływanie występujących tam wariantów genetycznych ma ograniczone zastosowanie w określaniu ryzyka tej choroby. Dlatego poznanie genetycznych czynników wpływających na skłonność do choroby może być przydatne we wczesnej diagnozie i leczeniu zawału mięśnia sercowego. Wstęp jest bardzo obszerną częścią pracy, liczącą 66 stron, w której doktorantka wyjaśnia: etiopatogenezę zawału mięśnia sercowego, czynniki ryzyka oraz uzasadnia wybór genów w etiologii tej choroby. Wydaje się, że w spisie treści podrozdziały 1.4., 1.5., 1.6., 1.7. powinny być traktowane jako podrozdziały rozdziału 1.3. i powinna być zmieniona numeracja na 1.3.1., 1.3.2., 1.3.3., 1.3.4. Stanowią one rozwinięcie rozdziału wstępu (1.3.). Doktorantka dużo uwagi poświęca procesowi arteriosklerozy jako podstawowego czynnika etiologicznego zawału mięśnia sercowego. Szczegółowo wyjaśnia procesy odkładania blaszki miażdżycowej w naczyniach wieńcowych serca, uwzględniając rolę śródbłonka naczyniowego w tym procesie chorobowym. Najważniejszym czynnikiem, który inicjuje rozwój miażdżycy jest wysoki poziom cholesterolu we krwi. U osób, których poziom całkowitego cholesterolu nie przekracza 150 mg/dl bardzo rzadko stwierdza się miażdżycę.

Drugim czynnikiem ryzyka zawału mięśnia sercowego, który wnikliwie analizowany jest w dysertacji, jest predyspozycja genetyczna. Wyodrębniono sześć grup genów mogących być zaangażowanych w etiologię zawału serca:

- geny związane z metabolizmem lipoprotein,
- geny związane z procesem zapalnym,
- geny związane z otyłością lub cukrzycą,
- geny związane z nadciśnieniem,
- geny związane z układem krzepnięcia,
- pozostałe geny o różnorodnym wpływie.

Doktorantka wytypowała do badań gen VAMP8, andobrewina 8 kodujące białko uczestniczące w uwalnianiu zawartości ziarnistości płytkowych. Gen PON1 paraoksonaza 1 odpowiada za właściwości przeciwutleniające HDL lipoprotein o dużej gęstości. Śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (eNOS) odpowiada za procesy toczące się w śródbłonku

oraz polimorfizm genu MTHFR reduktaza metylenotetrahydrofolianowa wpływający na dysfunkcję śródbłónka.

Wstęp jest napisany bardzo wnikliwie, poparty piśmiennictwem, co świadczy o dużej znajomości tematu przez doktorantkę.

Drugi rozdział, to założenia i cel pracy. Pani mgr Marzena Gonerska postawiła w swojej pracy następujący cel: „Określenie wpływu polimorfizmu wybranych genów na ryzyko wystąpienia zawału mięśnia sercowego”. W rozdziale zwięźle zawarła cele szczegółowe, które zawężają pole badań nad tak szerokim zagadnieniem jakim jest zawał mięśnia sercowego. Szczegółowe cele badawcze:

1. Porównanie oddziaływania tradycyjnych czynników ryzyka (nadciśnienia, podwyższonego poziomu cholesterolu, cukrzycy, otyłości, palenia tytoniu) u osób z wczesnym zawałem serca
2. Określenie związku między występowaniem określonego genotypu dla polimorfizmu typu SNP genu VAMPS8 z występowaniem zawału serca.
3. Oznaczenie zależności między polimorfizmem genu PON1 i zawałem serca.
4. Sprawdzenie zależności między wariantem polimorficznym genu NOS3 i zawałem mięśnia sercowego.
5. Określenie relacji genotypu dla polimorfizmu SNP genu MTHFR z zawałem serca.
6. Porównanie częstości występowania określonych wariantów polimorficznych genów u osób, które przebyły zawał w młodym wieku.

W rozdziale „Materiał i metody” Pani magister Marzena Gonerska opisała odczynniki i aparaturę wykorzystaną w dysertacji. Badania przeprowadzone zostały za zgodą Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu. Do badań wykorzystano krew oraz ankiety pacjentów (wywiad) Kliniki Kardiologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz pacjentów Oddziału Rehabilitacji Kardiologicznej Centrum Medycyny i Rehabilitacji „Medar” – grupa badana. Warunek kwalifikujący pacjenta do grupy badanej, to przebycie zawału mięśnia sercowego i wiek pacjenta. W grupie kontrolnej kwalifikowana była krew od osób, które nie przeszły zawału serca i spełniały kryteria wiekowe.

Dobór metod badawczych jest prawidłowy, zgodny z celami jakie zostały postawione w pracy. Zastosowane techniki molekularne są opisane szczegółowo. Uzupełnieniu w tym rozdziale wymaga podanie liczebności grupy badanej i kontrolnej (podana w wynikach) oraz uzupełnienie pochodzenia materiału w przypadku grupy kontrolnej (od jakich pacjentów

pobrano krew – którego Oddziału). Zastosowana analiza statystyczna została opisana w rozdziale materiały i metody. Dobór metod statystycznych jest prawidłowy.

Rozdział “Wyniki badań” zajmuje 20 stron. W tej części doktorantka szczegółowo opisała i zilustrowała uzyskane w dysertacji wyniki swoich obserwacji. W podrozdziale 4.1. doktorantka dokonała analizy porównawczej grupy badanej i kontrolnej. Do grupy badanej zakwalifikowano 51 osób ze zdiagnozowanym zawałem mięśnia sercowego. Natomiast grupa kontrolna liczyła 50 osób. Typowanie osób do grup zostało przeprowadzone zgodnie z przyjętymi założeniami przedstawionymi w materiałach i metodach, a w tabeli V przedstawiono zestawienie danych antropometrycznych.

W wynikach na stronie 90. doktorantka podaje, że średni obwód pasa kobiet z grupy badanej wynosił $97,2 \pm 22,96$ cm, a kobiet z grupy kontrolnej $92,5 \pm 12,31$ cm. Natomiast średni obwód pasa z tych 2 grup wynosił 88 cm. Nie do końca rozumiem w jaki sposób wartość ta została wyliczona, zważywszy, że średnia w obu grupach jest wyższa od 88 cm. Ciekawy jest również brak zależności między zawałem serca a występowaniem otyłości trzewnej u mężczyzn. Zważywszy, że grupa badana mężczyzn charakteryzowała się mniejszym obwodem pasa niż grupa kontrolna. Obserwacja doktorantki przeczy wcześniejszym badaniom - pozycje piśmiennictwa (234, 235). W tabeli VI przedstawiającej występowanie podstawowych czynników ryzyka w grupie pacjentów z zawałem mięśnia sercowego i grupie kontrolnej wydaje się mało precyzyjne, a nawet mylne użycie sformułowania “pacjenci” dla grupy badanej obejmującej mężczyzn i kobiety po przebytych zawałach. Zaskakujące jest również, że palenie tytoniu, nadciśnienie, cukrzyca, nadwaga nie koreluje dodatnio z zawałem mięśnia sercowego. Jedynym czynnikiem korelującym jest podwyższony poziom cholesterolu.

Pani magister Marzena Gonerska przeprowadziła dyskusję z dużym znanstwem podobnych prac w piśmiennictwie światowym. Rozdział liczy aż 30 stron. Autorka podkreśla korelację między wysokim stężeniem cholesterolu we krwi a zawałem mięśnia sercowego. Podobna korelacja występuje pomiędzy zawałem a występowaniem obciążającego wywiadu rodzinnego, co przedstawia tabela nr VI. Doktorantka stwierdza, że zarówno cukrzyca typu 1, jak i cukrzyca typu 2 w znaczący sposób zwiększa ryzyko choroby wieńcowej. Liczne przypadki cukrzycy w grupie kontrolnej (bez zawału), zdaniem autorki, były wynikiem wyższej średniej wieku tej grupy. Zachorowalność na cukrzycę wybitnie wzrasta w miarę starzenia się. W rozdziale skonfrontowane są również uzyskane wyniki badań genetycznych z pracami innych autorów.

Pracę kończy 6 wniosków, które są odpowiedzią na postawione wcześniej cele pracy. Skonstruowane są prawidłowo i zgodne z uzyskanymi wynikami badań.

Piśmiennictwo liczy aż 326 pozycji literaturowych w języku polskim i angielskim. Cytowane prace w większości są anglojęzyczne, publikowane w ostatnim dziesięcioleciu w renomowanych czasopismach. Piśmiennictwo ułożono zgodnie z kolejnością cytowań w tekście, co jest przyjęte w tego typu pracach i ułatwia wgląd czytającemu. Duża ilość cytowań i pozycji piśmiennictwa świadczy o dobrym skonfrontowaniu opisywanego zagadnienia z osiągnięciami innych badaczy.

Podsumowując, doktorantka w przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej wykazała, że potrafi samodzielnie zaplanować cele badawcze i skutecznie przeprowadzić badania. Przeprowadzone analizy wykonane były skrupulatnie i zgodnie z obowiązującymi normami. Temat pracy jest nurtujący, gdyż problemy sercowo-naczyniowe są częstą przyczyną nagłych zgonów. Należy również podkreślić, że badania były bardzo pracochłonne i kosztochłonne. Użyta metodyka badań spełnia światowe standardy. Nieliczne usterki przedstawione w recenzji nie wpływają na ocenę dysertacji, a mają na celu tylko pomóc w przygotowaniu wyników do upowszechnienia. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, którą oceniam bardzo wysoko, skłania mnie do wnioskowania o wyróżnienie dysertacji stosowną nagrodą.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. biotechnologii Marzeny Gonerskiej spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz 595, z późn. Zm.) i § 6.3 Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz postępowaniu o nadanie tytułu profesora.

Stawiam zatem wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. biotechnologii Marzeny Gonerskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Albert Czerski prof. nadzw.

Kierownik
Zakładu Fizjologii Zwierząt
Dr hab. n. wet. Albert Czerski