

Prof. dr hab. n.med. Irena Baranowska-Bosiacka  
Katedra Biochemii i Chemii Medycznej  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

## **Recenzja**

rozprawy doktorskiej lek. Tomasza Matysa pt. ” Genetyczne aspekty otyłości i zespołu metabolicznego u osób zawodowo narażonych na arsen i niektóre metale ciężkie” wykonanej w Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych, Zawodowych, Nadciśnienia Tętniczego i Onkologii Klinicznej, na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Promotorem pracy jest Pan dr hab. n. med. prof. UMW Paweł Gać. Promotorem pomocniczym dr n. med. Anna Szymańska-Chabowska.

### **Ocena formalna:**

Rozprawa doktorska spełnia wszystkie warunki stawiane pracom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.). Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi cykl trzech publikacji dotyczących oceny związku pomiędzy stężeniem ołowiu (Pb), kadmu (Cd) i arsenu (As) z polimorfizmem niektórych genów uczestniczących w rozwoju cukrzycy, zespołu metabolicznego oraz metabolizmie As w populacji osób narażonych zawodowo na te pierwiastki.

Rozprawa doktorska składa się z jednej publikacji przeglądowej, w której przedstawiono aktualny stan wiedzy na poruszany temat oraz dwóch publikacji zawierających oryginalne wyniki badań własnych Doktoranta.

Przedstawiona do recenzji rozprawa zawiera 67 stron maszynopisu i składa się z następujących części: strona tytułowa, wprowadzenie, założenia i cele pracy, omówienie publikacji stanowiących podstawę pracy doktorskiej, wnioski, streszczenie w j. polskim i j. angielskim, piśmiennictwo oraz prace stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej (31 stron), oświadczenia współautorów, zgoda komisji bioetycznej.

### **Ocena merytoryczna:**

Dysertacja doktorska Lek. Tomasza Matysa stanowi zbiór trzech spójnych tematycznie prac opublikowanych w latach 2019-2020. Artykuły te zostały zamieszczone w zagranicznych czasopismach naukowych: Journal of Clinical Medicine (IF=3,303 i 140 pkt.) oraz Human and Experimental Toxicology (IF=2,067 i 70 pkt.) oraz w czasopiśmie polskim Medycyna

Środowiskowa (5 pkt.). Łączna wartość IF publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 5,370 (215 pkt.), co wskazuje na prawidłowy dobór tematu oraz właściwe zaplanowanie i przeprowadzenie badań. W mojej opinii są to bardzo wysokie wskaźniki bibliometryczne dla pracy doktorskiej.

Należy podkreślić, że wyniki badań Doktoranta zostały opublikowane w uznanych zagranicznych czasopismach naukowych i zostały poddane „procesowi” opiniowania przez uznanych specjalistów z tego zakresu.

Temat pracy doktorskiej jest bardzo aktualny, sformułowany jasno i precyzyjnie. Tytuł pracy doktorskiej odpowiada w pełni tematyce przedstawionych publikacji. Pierwsza część pracy stanowi wprowadzenie do cyklu prac, gdzie przedstawiono najważniejsze informacje dotyczące mechanizmów toksycznego działania arsenu, kadmu i ołowiu w organizmie. Następnie Doktorant przedstawił przesłanki jakie przyczyniły się do podjęcia badań oraz cel pracy doktorskiej. Kolejny rozdział to streszczenie artykułów stanowiących dysertację. Lek. Tomasz Matys spójnemu tematycznie cyklowi trzech publikacji nadał tytuł: ”Genetyczne aspekty otyłości i zespołu metabolicznego u osób zawodowo narażonych na arsen i niektóre metale ciężkie”. W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

#### 1. Prace oryginalne:

- Tomasz Matys, Anna Szymańska-Chabowska, Katarzyna Bogunia-Kubik, Beata Smyk, Małgorzata Kamińska, Grzegorz Mazur, Rafał Poręba, Paweł Gać: The relationship between selected CNR1, MC4R, LEP, FTO and VDR gene polymorphisms and several basic toxicological parameters among persons occupationally exposed to arsenic, cadmium and lead. *J. Clin. Med.* 2020 Vol.9 no.4 art.1040. DOI: 10.3390/jcm9041040.

-Anna Szymańska-Chabowska, Tomasz Matys, Łukasz Łaczmański, Karolina Czerwińska, Agnieszka Janus, Beata Smyk, Grzegorz Mazur, Rafał Poręba, Paweł Gać: The relationship between PNP, GSTO-1, AS3MT and ADRB3 gene polymorphisms and urinary arsenic concentration among copper smelter and refinery employers. *Hum. Exp. Toxicol.* 2020, Vol.39 no.11 s.1443-1453. DOI: 10.1177/0960327120925891.

#### 2. Praca przeglądowa:

-Tomasz Matys, Anna Szymańska-Chabowska, Rafał Poręba, Grzegorz Mazur, Paweł Gać: Genetic aspects of obesity and metabolic syndrome in people occupationally exposed to arsenic and certain heavy metals. *Med. Śr.* 2019 T.22 nr 1-2 s.29-32.

DOI:10.26444/ms/122202

W dwóch publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, w jednej pracy badawczej jest autorem na drugiej pozycji wśród wszystkich autorów. Nie określono udziału procentowego lek. Tomasza Matysa w tych publikacjach, natomiast szczegółowo wskazano zakres pracy jako: projektowanie, organizowanie, nadzorowanie badań, uzyskanie badań ankietowych, interpretacja wyników badań, zebranie piśmiennictwa naukowego, odniesienie wyników badań do szczegółowo przeprowadzonego piśmiennictwa naukowego, współredagowaniu merytorycznym publikacji oraz ostatecznym przygotowaniu manuskryptu (w dwóch pracach badawczych). W pracy przeglądowej udział Doktoranta został wskazany jako zebranie piśmiennictwa naukowego, współredagowanie merytoryczne publikacji oraz ostateczne przygotowanie manuskryptu, co zostało potwierdzone przez współautorów w stosownych oświadczeniach.

W pracy przeglądowej Autor trafnie wybrał temat i koncepcję publikacji, którą poparł obszernym piśmiennictwem. Opracował również manuskrypt do publikacji. W pracach oryginalnych Doktorant miał wiodącą rolę w sformułowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań, opracowaniu wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptów do publikacji.

Współautorstwo prac lek. Tomasza Matysa wskazuje na posiadanie zdolności organizacyjnych i umiejętności pracy w zespole. Jest to cecha jak najbardziej pożądana we współczesnej nauce, bowiem obecnie indywidualnie nikt nie jest w stanie dokonać znaczących osiągnięć naukowych, przede wszystkim ze względu na ich olbrzymie koszty.

W pierwszej pracy z analizowanego cyklu przedstawiono wyniki badań przeprowadzonych u 85 pracowników huty miedzi zawodowo narażonych na As, Pb, Cd w wieku 26-67 lat. U wszystkich badanych osób wykonano oznaczenia podstawowych markerów laboratoryjnych i toksykologicznych. Określono stężenia Pb i Cd we krwi pełnej, protoporfiryn cynkowych, Zn i Cu w surowicy krwi. Oceniano także całkowite stężenie As w moczu. Oznaczono morfologię krwi obwodowej oraz określono stężenie kreatyniny, mocznika, aminotransferaz, bilirubiny, glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, cholesterolu HDL i triglicerydów we krwi. Oceniane były również markery gospodarki wapniowo-fosforanowej - stężenia wapnia, fosforanów, 25-OH witaminy D i parathormonu we krwi. Dokonano oceny wybranych polimorfizmów pojedynczego nukleotydu dla genu receptora kannabinoidowego 1 (CNR1), genu receptora melanokortyny 4 (MC4R), leptyny (LEP G-2548A), genu dioksygenazy zależnej od alfa-ketoglutaranu (FTO) i receptora witaminy D FokI. Oceniano cztery polimorfizmy genu CNR1: rs806381, rs806368, rs1049353, rs12720071, jeden polimorfizm genu MC4R: rs17782313, jeden polimorfizm genu leptyny LEP G-2548A:

rs7799039, jeden polimorfizm genu MC4R: rs17782313, jeden polimorfizm genu leptyny LEP G-2548A: rs7799039 oraz jeden polimorfizm genu FTO V39609I rs358.

W badaniach wykazano, że homozygotyczność AA w locus rs806381 w genie CNR1 wiąże się ze znamienne niższym stężeniem As w moczu w porównaniu z heterozygotycznością AG i homozygotycznością GG. Obecność natomiast allelu G w tym locus wiąże się ze znamienne wyższym stężeniem As w moczu. W locus rs12720071 genu CNR1, homozygoty GG charakteryzowały się znamienne wyższym stężeniem As w moczu niż heterozygoty AG i homozygoty AA. Allel A w tym locus może być powiązany ze znamienne niższym stężeniem As w moczu. Analiza wykazała również, że allel A w locus rs1049353 genu CNR1 może odpowiadać za niższe stężenia As w moczu, a allel G w locus rs7799039 genu LEP G-2548A może być odpowiedzialny za istotnie wyższe stężenie As w moczu badanych. Wykazano także, że allel T w locus rs10735810 genu VDR FokI może być czynnikiem odpowiedzialnym za znamienne niższe stężenie Cd we krwi badanych. W badanej grupie homozygoty GG w locus rs1049353 genu CNR1 miały znamienne wyższe stężenie Pb we krwi w porównaniu z heterozygotami AG i homozygotami AA. Stwierdzono, że heterozygotyczność AG w locus rs1049353 genu CNR1 może skutkować znamienne niższym stężeniem protoporfiryn cynkowych we krwi w porównaniu z homozygotycznością AA i GG, a allel A może odpowiadać za niższe stężenie protoporfiryn cynkowych we krwi. Ponadto wykazano, że allel A w locus rs9939609 genu FTO jest związany ze znamienne wyższym stężeniem protoporfiryn cynkowych we krwi.

W drugiej pracy oryginalnej włączonej do cyklu przeprowadzono badania z udziałem 113 pracowników huty miedzi zawodowo narażonych na As, Pb i Cd w wieku 26-63 lat. W grupie badanej określano stężenia Pb i Cd we krwi pełnej, protoporfiryn cynkowych, Zn i Cu w surowicy oraz całkowite stężenie As w moczu. Wykonano także badania morfologii krwi obwodowej i podstawowe badania biochemiczne (stężenie kreatyniny, mocznika, aminotransferaz, bilirubiny, glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, cholesterolu HDL i triglicerydów). Ponadto oznaczono polimorfizmy genów PNP (rs1130650), GSTO-1 (rs4925), As3MT (rs11191439) i ADRB3 (rs4994).

W badaniach wykazano, że w podgrupach homozygot CC i heterozygot CT w porównaniu do podgrupy homozygot TT znamienne częściej wartości As-U były równe lub wyższe od mediany uzyskanej dla całej badanej grupy. Przy pomocy analizy porównawczej podgrup wyodrębnionych w oparciu o kryterium polimorfizmu rs4925 genu dla GSTO-1 wykazano, że homozygoty AA charakteryzowały się znamienne wyższymi średnimi wartościami As-U niż heterozygoty AC i homozygoty CC. Ponadto w podgrupie homozygot

AA istotnie statystycznie częściej w stosunku do podgrup heterozygot AC i homozygot CC wartości As w moczu mieściły się w zakresach: równe lub wyższe od mediany uzyskanej dla całej badanej grupy; równe lub wyższe od 3. kwartyła uzyskanego dla całej badanej grupy oraz wyższe od wartości MAC. Stosując analizę porównawczą podgrup nie wykazano natomiast znamienych różnic pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi w oparciu o kryterium polimorfizmu typu rs11191439 genu As3MT oraz polimorfizmu typu rs4994 genu ADRB3 pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi w oparciu o kryterium polimorfizmu typu rs11191439 genu As3MT oraz polimorfizmu typu rs4994 genu ADRB3.

W trzeciej pracy cyklu, którą stanowi praca pogładowa zwrócono uwagę, że otyłość jest powszechnym problemem zdrowotnym, przyczynia się do rozwinięcia zespołu metabolicznego, nadciśnienia tętniczego i cukrzycy typu 2, nowotworów i innych schorzeń. Podkreślono, że jednocześnie coraz większą wagę przywiązuje się do wpływu czynników środowiskowych (w tym narażenia na As, Pb i Cd) na rozwój zespołu metabolicznego. Zaznaczono, że wpływ ten środowiskowo dotyczy całej populacji, jednak jest szczególnie widoczny w populacji narażonej zawodowo. W pracy Doktorant podkreślił, że analizując zarówno zespół metaboliczny, jak i narażenie na metale, nie sposób ominąć dużej zmienności genetycznej w populacji. Dotyczy ona polimorfizmu pojedynczych nukleotydów genów współodpowiedzialnych za rozwój zespołu metabolicznego, genów odpowiedzialnych za metabolizm As, ale też ekspresji mikro- RNA. W pracy podkreślono rolę wpływu tych pierwiastków na rozwój zespołu metabolicznego uwzględniając zmienność genetyczną. Przedstawiono wybrane, najlepiej poznane elementy zmienności genetycznej i jej znaczenie w rozwoju zespołu metabolicznego z uwzględnieniem narażenia na As, Pb, Cd. Podkreślono, że polimorfizm pojedynczych nukleotydów jest dość dobrze poznany. Poszczególne warianty genów leptyny, CNR1, FTO związane są bowiem z większym ryzykiem rozwoju zespołu metabolicznego, a pewnie warianty genów odpowiedzialnych za metabolizm As (As3MT) i Pb (ALAD) związane są z ich większą toksycznością. Natomiast wiedza o związku narażenia na As, Pb, Cd a polimorfizmami genów odpowiedzialnych za rozwój zespołu metabolicznego jest niewielka. W pracy zauważono, że ekspresja pewnych miRNA pozwala wykryć zarówno narażenie na As, jak i zwiększone ryzyko epizodów sercowo-naczyniowych w przyszłości, a także istnienie bieżących uszkodzeń narządowych. Zasugerowano, że ugruntowanie i wykorzystanie wiedzy o miRNA wydaje się właściwym kierunkiem badań, jednak nie powinno pomijać posiadanej już wiedzy o polimorfizmie pojedynczych nukleotydów.

Wnioski wynikające z prac oryginalnych są poprawnie sformułowane i w pełni uzasadnione. W pracy zgromadzono i cytowano wartościową literaturę przedmiotu.

Całość rozprawy Lek. Tomasza Matysa oceniam bardzo dobrze, niemniej jednak, z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na brak rozdziałów w przedstawionej do oceny dysertacji „Wykaz stosowanych skrótów” oraz „Materiał i metody badań”. Jednocześnie, pragnę zauważyć, że rozdziały te znajdują się w pracach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej.

### **Podsumowanie**

Uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria, jakie są stawiane tego typu opracowaniom. Praca została właściwie zaplanowana, bardzo dobrze wykonana, a uzyskane wyniki przedstawiono w renomowanych, specjalistycznych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym i krajowym. Praca wnosi nowe, cenne dane dotyczące związku czynników środowiskowych z rozwojem zespołu metabolicznego z uwzględnieniem zmienności genetycznej. Doktorant wykazał się dobrą orientacją w analizowanych zagadnieniach.

Rozprawa doktorska spełnia wszystkie warunki stawiane pracom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789 z późn. zm.). Dlatego zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Tomasza Matysa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę aktualną tematykę i wysoki poziom badań przedstawionych w dysertacji oraz opublikowanie prac w międzynarodowych czasopismach naukowych z wysoką sumaryczną wartością IF, wnoszę o wyróżnienie ocenianej pracy doktorskiej (*summa cum laude*) lek. Tomasza Matysa.



Szczecin, dnia 16.05.2021 r.