

RECENZJA

Woch 30.03.2022
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
M. Podhorska-Okołów
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	30-03-2022
L. dz. RN-BM/	468/2022

Aktywności naukowej oraz osiągnięcia naukowego pt.:

„Środowiskowe, genetyczne i epigenetyczne czynniki rozwoju oporności na insulinę w tkance tłuszczowej”

dr n. med. Małgorzaty Małodobra-Mazur

stanowiących podstawę wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych (dyscyplina biologia medyczna)

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 5 prac opublikowanych w czasopiśmie naukowych o zasięgu międzynarodowym w latach 2014-2020 o łącznym IF 14,64 (MNiSW/KBN: 265.00). We wszystkich 5 publikacjach dr n. med. Małgorzata Małodobra-Mazur jestem pierwszym autorem. Załączone oświadczenia współautorów potwierdzają znaczny wkład koncepcyjny oraz wykonawczy Kandydatki do przedstawionych prac uzasadniając ich wykorzystanie dla potrzeb wniosku o nadanie stopnia dr hab.

Choroby z kręgu zespołu metabolicznego, tj. nadwaga, cukrzyca typu 2 (T2DM), nadciśnienie tętnicze czy miażdżycza stanowią olbrzymi i rosnący problem cywilizacyjny. Pomimo szerokich badań prowadzonych na całym świecie dokładna patogeneza tych schorzeń pozostaje niewyjaśniona co przekłada się na brak skutecznych metod leczenia i zapobiegania. Pomimo niepełnej wiedzy jest uznane, że istotnym elementem ww. schorzeń jest zaburzenie szlaku sygnałowego insuliny, w szczególności prowadzące do insulinooporności. Jest też dowiedzione, że u większości pacjentów zespół metaboliczny oraz insulinooporność mają podłoże wieloczynnikowe, tzn. są uwarunkowane interakcją pomiędzy czynnikami genetycznymi najczęściej mającymi charakter polimorfizmów DNA oraz środowiskowymi, głównie związanymi z dietą oraz niską aktywnością fizyczną.

W związku z powyższym, temat podjęty przez dr n. med. Małgorzatę Małodobrą-Mazur należy uznać za ważny i dobrze wpisujący się w aktualny nurt światowych badań.

1 W pracy: “*Stearoyl-CoA desaturase regulates inflammatory gene expression by changing DNA methylation level in 3T3 adipocytes.*” dr. Małgorzata Małodobra-Mazur i wsp. testowali hipotezę, że regulacja ekspresji genów związana z aktywnością *SCD1* (kodującego stearoilo-CoA desaturaza 1) może odbywać się przez zmiany w metylacji DNA. W szczególności wykazano, że nadekspresja *SCD1*, szczególnie w dojrzałych adipocytach, powoduje globalną hipometylację DNA. W przeciwieństwie do tego, zarówno wyciszenie ekspresji genu *SCD1* przez siRNA, jak i zahamowanie aktywności enzymu powodowało hipermetylację DNA. Analiza promotorów 22 genów związanych z odpowiedzią zapalną wykazała, że w szeregu przypadków poziom metylacji miejsc CpG był związany i korelował z ekspresją lub aktywnością *SCD1*. Wyniki wskazują, że, mechanizm za pomocą którego *SCD1* wpływa na zapalenie adipocytów może obejmować zmiany w metylacji genów kodujących czynniki prozapalne.

Opisane wyniki w pracy są istotne i oryginalne w skali światowej. Od czasu publikacji ww. praca była cytowana 25 razy.

Zwraca uwagę szeroki wachlarz nowoczesnych technik badawczych wykorzystywanych przez Kandydatkę. Techniki te, to w szczególności generowanie stabilnych linii komórkowych ze wzmożoną ekspresją *SCD1*, modulowanie ekspresji genu w hodowlach komórkowych m.in. z pomocą siRNA, badania techniką Western Blot, badania biochemiczne lipidów techniką chromatografii cienkowarstwowej oraz wielowymiarowe (globalne i lokalne) badania metylacji DNA.

2 W pracy „*Single nucleotide polymorphisms in 5'-UTR of the SLC2A4 gene regulate solute carrier family 2 member 4 gene expression in visceral adipose tissue*” dr. Małgorzata Małodobra-Mazur i wsp. oceniali związek między wariantami genetycznymi w niekodujących rejonach genu *SLC2A4* a ekspresją tego genu. Badanie przeprowadzono na limfocytach pobranych od 34 chorych na T2DM i takiej samej liczbie osób zdrowych, a także na materiale z biopsji trzewnej tkanki tłuszczowej od 15 pacjentów z T2DM i 24 kontroli. Badano 3 warianty SNP (rs5417, rs5418 i rs8082645), z których dwa (rs5417 i rs5418) są zlokalizowane w 5'UTR, a jeden (rs8082645) w 3'UTR. Wykazano, że ekspresja *SLC2A4* była ogólnie obniżona u pacjentów z T2DM, a ekspresja w tkance tłuszczowej ujemnie korelowała z BMI. Analiza genetyczna wykazała, że genotypy dwóch SNP (rs5417 i rs5418) w 5' UTR korelowały z ekspresją *SLC2A4* w tkance tłuszczowej, przy czym homozygoty wykazywały najniższy poziom ekspresji.

Uwaga do ww. pracy: W opisie wyników znajduje się stwierdzenie, że „*SLC2A4* gene expression level was slightly lower within type 2 diabetic patients in both type of tissues.”, które nie jest w pełni zgodne z uzyskanymi wynikami oraz dyskusją. W szczególności w Dyskusji napisano: „In the present study, we have demonstrated that the *SLC2A4* gene expression was slightly decreased in patients with type 2 diabetes, both in lymphocytes and in visceral adipose tissue; however, we did not find any statistically significant association in neither analysis.” Przy braku znamienności statystycznej należy mówić co najwyżej o trendzie, a nie o różnicy między grupami.

Kolejna uwaga to brak analizy i dyskusji problemu nierównomiernego sprzężenia pomiędzy badanymi wariantami SNP. Warianty położone tak blisko siebie jak badane SNPy z dużym prawdopodobieństwem nie występują w populacji losowo (tj. niezależnie) co może mieć wpływ na interpretację wyników. Problem nierównomiernego sprzężenia dotyczy także

sprzężeń z innymi SNPami w rejonie, np. takimi, które wcześniej były wiązane z T2DM czy powiązanymi fenotypami. Dane na ten temat powinny być omówione.

3 Celem pracy “*Oleic acid influences the adipogenesis of 3T3-L1 cells via DNA Methylation and may predispose to obesity and obesity-related disorders*” była ocena wpływu nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych na powstawanie tkanki tłuszczowej na modelu różnicowania się w kierunku adipocytów linii komórek T3-L1 (linia preadipocytarna) hodowanych z dodatkiem nadmiaru kwasu palmitynowego, stearynowego i oleinowego. Fenotyp komórek oceniano poprzez badanie insulinowrażliwości, wydzielania adipokin oraz analizy zawartości tłuszczu. Dodatkowo, w komórkach badano ekspresję CEBPB i PPARG oraz globalną i miejscowo-specyficzną metylację DNA. W pracy wykazano, że kwas oleinowy nasilał zmiany w morfologii i akumulację lipidów w preadipocytach 3T3-L1 podczas procesu różnicowania. Ponadto kwas oleinowy wpływał na metylację promotorów genów *CEBPB* i *PPARG* oraz zwiększał ich ekspresję w sposób zależny od dawki. Ponadto badane kwasy tłuszczowe wpływały na fenotyp dojrzałych adipocytów hodowanych *in vitro*, zwłaszcza na szlak sygnalizacji insuliny i sekrecję adipokin, zaburzając proces wychwytu glukozy i powodując ogólne zmiany podobne do występujących u komórek opornych na insulinę.

Praca jest interesująca, dobrze wpisuje się w temat rozprawy.

4 Celem pracy “*Obesity-induced insulin resistance via changes in the DNA methylation profile of insulin pathway genes*” było zbadanie wpływu otyłości na rozwój oporności na insulinę (IR) poprzez mechanizmy epigenetyczne. W szczególności wykazano, że globalna metylacja DNA była wyższa u osób otyłych i dodatnio skorelowana z IR. Dodatkowo, u osób otyłych stwierdzono podwyższoną ekspresję *DNMT3a* oraz wzrost globalnej metylacji DNA oraz metylacji promotorów genów szlaku insuliny, takich jak *INSR* i *SLC2A4*. Badania przeprowadzono na limfocytach (N=34) i trzewnej tkance tłuszczowej (VAT; N=35) osób z insulinopornością (pacjenci z T2DM, N=9) oraz osób zdrowych z grupy kontrolnej (N=26).

Lektura pracy jest utrudniona przez brak opisu składowych rycin 1 i 2. W szczególności fig. 1 składa się z mniejszych rycin oznaczonych A-J, które nie są jednak opisane indywidualnie. Podobnie fig. 2 - części A-C, bez opisu, dla przykładu, nie jest jasne czym różnią się od siebie części A i B).

Pomimo ww. uwagi praca stanowi istotny wkład w poznanie znaczenia metylacji DNA w rozwoju otyłości i IR.

5 Celem pracy "*Metabolic Differences between Subcutaneous and Visceral Adipocytes Differentiated with an Excess of Saturated and Monounsaturated Fatty Acids*" było zbadanie efektu kwasów tłuszczowych (palmitynowego, stearynowego i oleinowego) na różnicowanie w kierunku tkanki tłuszczowej mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) pochodzenia podskórnego i trzewnego. MSCs tkanki tłuszczowej uzyskano z fragmentów podskórnej i trzewnej tkanki tłuszczowej pobieranej podczas zabiegów chirurgicznych jamy brzusznej od 9 osób. Wykazano, że kwas oleinowy stymuluje adipogenezę, co skutkuje wyższą zawartością lipidów i większymi adipocytami. Ponadto kwas oleinowy stymulował adipogenezę poprzez zwiększenie ekspresji białka CEBPB i PPAR γ . Dodatkowo, wszystkie badane kwasy tłuszczowe osłabiały szlak sygnalizacji insuliny i radykalnie zmniejszały wychwyt glukozy po stymulacji insuliną.

Praca jest interesująca i spójna z tematyką rozprawy, szczególnie w kontekście pracy nr 3, która opisywała podobne badania ale na modelu linii komórkowej.

Ocena aktywności naukowej

Dorobek naukowy Kandydatki po uzyskaniu tytułu doktora nauk medycznych (data obrony doktoratu 21 04 1982) obejmuje publikacje o łącznej punktacji IF (Impact Factor) = 37,069 oraz Pkt MNiSW = 726,00.

Dorobek Kandydatki jest wielokierunkowy - obok prac dotyczących zagadnień oporności na insulinę, które dodatkowo potwierdzają jej zaangażowanie w tematykę związaną z przedstawioną Rozprawą, dr n. med. Małgorzata Małodobra-Mazur jest także autorem prac dotyczących innych tematów.

W szczególności zwracają uwagę prace związane z funkcjonowaniem mitochondriów (*Epigenetics of mitochondria - the overview of mtDNA methylation, Post.Biol.Kom. 2019, 1,31-42, IF: 0,163*), patogenezą demencji (*Plasma tau protein and A(342 level as markers of cognitive impairment in patients with Parkinson's disease. Adv.Clin.Exp.Med. 2020 29,1 15-121, IF: 1.514*), predyspozycją do nowotworów (*VDR gene single nucleotide polymorphisms and their association with risk of oral cavity carcinoma, Acta Biochim.Pol. 2012 59 627-630, IF: 1,185, Pkt: 15,00*) oraz zagadnieniami z obszaru genetyki medycznej (*Polymorphisms of the MTHFR gene in mothers of children with trisomy 21 (Down syndrome) in a Polish population. Adv.Clin.Exp.Med. 2020, 29 .251-256, IF: 1.514, Pkt: 40,00*).

Niewątpliwym atutem dr n. med. Małgorzaty Małodobra-Mazur pozwalającym na zaangażowanie w tak różne tematy jest sprawność techniczna i doświadczenie w stosowaniu technik genetyki i biologii molekularnej.

Istotnym aspektem aktywności naukowej dr n. med. Małgorzaty Małodobra-Mazur jest skuteczne pozyskiwanie środków na badania pochodzących z NCN ale też innych źródeł. W szczególności Kandydatka kierowała dwoma projektami badawczymi:

Narodowe Centrum Nauki: 2017 - 2021 Modyfikacje epigenetyczne genów szlaku insulinowego oraz ich rola w indukcji insulinooporności związanej z otyłością. Konkurs SONATA (2016/21/D/NZ5/0155)

Fundacja Nutricia: 2017 - 2019, Grant Naukowy pt. Evaluation of the impact of saturated and monounsaturated fatty acids (SFA and MUFA) excess on the epigenetic modifications controlling adipogenesis and the phenotype of mature adipocytes (RG3/2016).

Oceniając aktywność naukową Kandydatki, należy odnotować, że po uzyskaniu tytułu doktora nauk medycznych, w latach 2011-2013, dr. Małgorzata Małodobra-Mazur odbyła staż naukowy w Pracowni Sygnałów Komórkowych i Zaburzeń Metabolicznych (Instytut Biologii Doświadczalnej i Komórkowej im. M. Nenckiego) pod kierownictwem Prof. Agnieszki Dobrzyń.

Podsumowując, pomimo opisanych powyżej drobnych uwag, przedstawione osiągnięcie naukowe pt.: „Środowiskowe, genetyczne i epigenetyczne czynniki rozwoju oporności na insulinę w tkance tłuszczowej” wraz z pozostałym dorobkiem naukowym dr n. med. Małgorzata Małodobra-Mazur spełnia wymagania stawiane rozprawie na stopień doktora habilitowanego.

W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie dr n. med. Małgorzaty Małodobra-Mazur do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Warszawa 17.03.2022


prof. dr.hab. n med. Rafał Płoski