

RECENZJA

rozprawy na stopień doktora

mgr Marty Włodarczyk

Asystenta

w Zakładzie Biochemii i Farmakogenomiki

Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Tytuł pracy: Otyłość oraz wybrane polimorfizmy genetyczne jako czynniki determinujące poziom endogennych uszkodzeń DNA

Katedra i Zakład Chemii
Klinicznej i Diagnostyki
Laboratoryjnej

Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny
Laboratoryjnej
w Sosnowcu

41-200 Sosnowiec
ul. Jedności 8
www.sum.edu.pl

Adiunkt
dr hab. n. med. Katarzyna Winsz-Szczotka
winsz@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 364 11 50
fax: (+48 32) 364 11 57
chem_klin@sum.edu.pl

Otyłość, nazwana przez ekspertów WHO epidemią XXI wieku, związana z nadmierną kumulacją tkanki tłuszczowej, stanowi ogniwo patogenetycznych zmian prowadzących do rozwoju przewlekłych schorzeń, w tym – cukrzycy typu 2, chorób układu sercowo-naczyniowego czy chorób nowotworowych. Znaczącą rolę w ujawnieniu powyższych zaburzeń pełnią – uwalniane z tkanki tłuszczowej – adipokiny oraz reaktywne formy tlenu (RFT). To właśnie liczne i złożone funkcje wymienionych cząsteczek w organizmie, jako modulatorów procesu zapalnego, skutkują powiązaniem między tkanką tłuszczową, zaburzeniami integralności genomu, chorobami metabolicznymi czy nowotworowymi. Stąd też, badania, pod wspólną nazwą: „Otyłość oraz wybrane polimorfizmy genetyczne jako czynniki determinujące poziom endogennych uszkodzeń DNA”, prowadzone przez Panią magister Martę Włodarczyk, pod opieką Pani Prof. dr hab. n. med. Grażyny Nowickiej, wpisujące się w powyższy nurt badań naukowych, uważam za niezwykle interesujące, zarówno ze względów naukowych, jak i potencjalnie klinicznych.

Rozprawa doktorska mgr Marty Włodarczyk, której celem była ocena wpływu otyłości i towarzyszącego jej procesu zapalnego oraz polimorfizmów genetycznych w wybranych genach związanych z procesem naprawy DNA oraz z procesem detoksykacji na poziom endogennych uszkodzeń DNA w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej, a także ocena wpływu sposobu żywienia na poziom uszkodzeń DNA, została przygotowana na podstawie monotematycznego cyklu pięciu publikacji. Prace te, z których 4 mają charakter prac oryginalnych, zaś jedna jest pracą poglądową, zostały opublikowane w latach: 2012 r. – dwie publikacje, 2018 r. – jedna publikacja, 2019 r. – dwie publikacje.

We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, zaś pozostali współautorzy wyrazili zgodę na przedłożenie tych prac przez Panią mgr Martę Włodarczyk, jako część rozprawy doktorskiej, przygotowanej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów. Należy podkreślić, że wszystkie omawiane prace zostały opublikowanych w czasopismach naukowych, indeksowanych w interdyscyplinarnej bazie JCR, o łącznej wartości wskaźnika oddziaływania (IF, impact factor) wynoszącym 13,22 (punkty MNiSW = 110), co wskazuje, że zostały już wcześniej rzetelnie i pozytywnie zrecenzowane.

Nadrzędny, wspomniany wyżej, cel pracy doktorskiej został osiągnięty przez realizację czterech logicznie powiązanych celów podrzędnych, obejmujących: • ocenę wpływu nadmiernej akumulacji tkanki tłuszczowej na poziom uszkodzeń DNA; • ocenę relacji między stopniem rozwoju stanu zapalnego towarzyszącego otyłości a poziomem uszkodzeń DNA; • ocenę relacji między poziomem spożycia wybranych składników odżywczych a poziomem uszkodzeń DNA; • ocenę związku między polimorfizmem genów CYP1A1, GSTM1, GSTT1, GSTP1, XPD i TNF- α a poziomem uszkodzeń DNA.

W pierwszej publikacji, pt.: „Anthropometric and dietary factors as predictors of DNA damage in obese women”, Autorka oceniając wielkość uszkodzeń DNA (z wykorzystaniem testu kometowego) w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej, pozyskanych od kobiet z prawidłową masą ciała oraz z otyłością, wykazała prawie dwukrotnie wyższy poziom uszkodzeń DNA (większą liczbę pęknięć jedno- i dwuniciowych DNA, a także miejsc alkalicznie labilnych) u kobiet cechujących się wartością BMI \geq 30. Co więcej, stwierdziła istotną zależność pomiędzy stężeniem hs-CRP a ilością uszkodzeń DNA, zarówno w całej badanej grupie kobiet, jak i w grupie otyłych. W tej ostatniej grupie osób uszkodzenia genomu pozostawały także w związku z ilością oraz jakością spożywanych składników pokarmowych, w tym – kwasów tłuszczowych czy witamin. Uzyskane wyniki pozwoliły Doktorantce wskazać, że stosowane normokalorycznej diety, zasobnej w związki antyoksydacyjne (szczególnie w witaminę C), może mieć istotny wpływ na integralność genomu u osób otyłych.

W drugiej publikacji, pt.: „TNF- α G-308A genetic variants, serum CRP-hs concentration and DNA damage in obese women”, Doktorantka kontynuując wcześniejsze zainteresowania naukowe, potwierdziła związek uszkodzeń DNA z wartościami BMI, WHR, skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi, jak również ze stężeniami cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL oraz hs-CRP, wykazanymi u osób badanych. Przeprowadzona ponadto przez Doktorantkę ocena [metodą PCR-RFLP (PCR-restriction fragments length polymorphism)] polimorfizmu dwuallelicznego zlokalizowanego w regionie promotora genu TNF- α , polegającego na substytucji guaniny przez adeninę w pozycji – 308 (G-308A), będąca przedmiotem opisywanej pracy, pozwoliła na stwierdzenie, że nosicielki rzadkiego allelu A polimorfizmu TNF- α G-308A, w porównaniu do homozygot GG, wykazywały istotnie niższe endogenne uszkodzenie DNA i surowicze stężenia hs-CRP. Uzyskane wyniki, wykazane w grupie kobiet cechujących się prawidłową masą ciała pozwoliły na wskazanie, że

otyłość stanowi niezależny – od wieku osoby badanej, genotypu TNF- α czy surowiczego stężenia CRP-hs – czynnik związany z uszkodzeniem DNA.

W trzeciej publikacji, pt.: „XPD gene rs13181 polymorphism and DNA damage in human Lymphocytes” oraz w czwartej publikacji pt.: „Common polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTT1, GSTP1 and XPD genes and endogenous DNA damage” Doktorantka scharakteryzowała związek polimorfizmu genów kodujących wybrane enzymy biorące udział w detoksykacji substancji genotoksycznych oraz w naprawie DNA z poziomem uszkodzeń genomu. Analizując kluczową grupą genów związanych z procesami naprawy DNA, tj. XPD (xeroderma pigmentosum complementation group D) wykazała, że poziomy uszkodzeń DNA istotnie różnią się między homozygotami AA a nosicielami allelu C, a obserwowane różnice nie są związane z wiekiem, płcią oraz paleniem lub nie paleniem tytoniu przez osoby badane. Zdaniem Autorki, obecność wariantu AA wiąże się ze zwiększoną ochroną przed uszkodzeniem oksydacyjnym DNA.

Co więcej, wielkość endogennych uszkodzeń DNA (w grupie niepalących osób) analizowano w odniesieniu do polimorfizmów w genach kodujących enzym detoksykacyjny fazy I – CYP1A1, enzymy detoksykujące fazy II – GSTM1, GSTT1, GSTP1 i enzym zaangażowany w naprawę wycięcia nukleotydów (XPD). Istotnym osiągnięciem badań w powyższym zakresie było stwierdzenie, że akumulacja zmian w sekwencji tych genów może przyczyniać się do zaburzeń wydajności metabolizowania substancji genotoksycznych a także może wpływać na efektywność naprawy DNA. Doktorantka wykazała najniższy stopień uszkodzeń DNA u nosicieli genotypu GSTP1-AA/GSTM1 (+), natomiast najwyższy u nosicieli wariantu AA w genie XPD i wariacie zerowym M1 w genie GSTM1. Występowanie niekorzystnego wariantu tego ostatniego genu tj. GSTM1 (-), wiążące się z wyższym poziomem uszkodzeń DNA, niezależnie od polimorfizmu innych badanych genów, sugeruje, iż u osób zdrowych i niepalących obecność wariantu GSTM1 (-) zwiększa ryzyko oksydacyjnych uszkodzeń DNA. Natomiast obecność GSTM1 (+), jak sugeruje Doktorantka, wydaje się być mechanizmem obronnym. W dotychczasowych badaniach Autorce nie udało mi się jednak określić czy obecność ocenianych wariantów genetycznych wpływa na ryzyko uszkodzeń DNA u otyłych.

Piąta publikacja pt.: „Obesity, DNA damage, and development of obesity-related disease”, pełni rolę zakończenia, będącego doskonałym podsumowaniem tematyki badań naukowych Pani mgr Marty Włodarczyk, a przedstawionych w powyżej opisanych pracach. Doktorantka, w zwięzły sposób przedstawia prooksydacyjne i prozapalne czynniki uszkadzające DNA, których znaczącym źródłem są adipocyty. Nadmierna kumulacja tych ostatnich w organizmie, zdaniem Autorki, jest kluczowym mechanizmem indukującym uszkodzenia genomu, a jednocześnie hamującym procesy ich regeneracji. W efekcie dochodzi do zmian ekspresji genów, z następowym rozwojem chorób cywilizacyjnych, w tym – cukrzycy, zaburzeń układu sercowo-naczyniowego czy schorzeń nowotworowych, przyczyniających się do obniżenia jakości życia, a często nawet znacznego jego

skrócenia. Stąd, wczesne zidentyfikowanie osób będących w grupie wysokiego ryzyka rozwoju wymienionych patologii, pozwolić może na podjęcie działań profilaktycznych, i objęcie ich opieką medyczną umożliwiającą zahamowanie rozwoju jawnego klinicznie schorzenia. Zdaniem Doktorantki ocena uszkodzenia DNA i/lub zaburzeń w procesach naprawczych genomu może być potencjalnie przydatna w powyższej diagnostyce. Uszkodzenia bowiem genomu, indukowane otyłością wydają się być odwracalne i zarówno utrata masy ciała, jak i poprawa nawyków żywieniowych oraz składu diety może wpływać na stabilność DNA.

W podsumowaniu oświadczam, że przedłożona mi do recenzji dysertacja doktorska pt.: „Otyłość oraz wybrane polimorfizmy genetyczne jako czynniki determinujące poziom endogennych uszkodzeń DNA” jest oryginalnym, samodzielny dorobkiem naukowym Kandydatki. Autorka dowiodła, iż opanowała „warsztat” pracy naukowej, jak i posiadała umiejętność wyboru odpowiedniej tematyki badań. Magister Marta Włodarczyk wykazała bardzo dobre przygotowanie teoretyczne, opanowanie nowoczesnego warsztatu badawczego i umiejętność krytycznej analizy uzyskanych wyników. Rezultaty pracy poszerzają dotychczasową wiedzę na temat otyłości, jako kluczowego czynnika zwiększającego ryzyko powstawania i akumulacji uszkodzeń DNA i sugerują, że wzrost dowozu z dietą witamin antyoksydacyjnych, a zwłaszcza witaminy C, może mieć znaczący wpływ na utrzymanie integralności struktury DNA.

Jednocześnie potwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Marta Włodarczyk pt.: pt.: „Otyłość oraz wybrane polimorfizmy genetyczne jako czynniki determinujące poziom endogennych uszkodzeń DNA” spełnia warunki Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz.U. 2003 Nr 65 poz.595 z późn.zm.).

Z pełnym przekonaniem zwracam się do Pani Dziekan z prośbą o przedstawienie Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, wniosku o dopuszczenie mgr Marty Włodarczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wysokie wartości merytoryczne ocenianej przeze mnie dysertacji, w tym nowatorski charakter wyników badań i ich znaczenie kliniczne, wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej WUM wniosek o wyróżnienie pracy Pani mgr Marty Włodarczyk.

