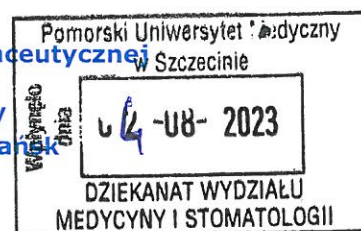


Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej
Wydział Farmaceutyczny
Gdański Uniwersytet Medyczny
Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk



Prof.dr hab. J. Renata Ochocka

Gdańsk, 31. 07. 2023

Ocena pracy doktorskiej lek. Filipa Przerwy
pt. „Analiza wpływu wybranych polimorfizmów genu OPG w patogenezie
osteoporozy pomenopauzalnej”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska lek. Filipa Przerwy, wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. n.med. Bogusława Czernego oraz dr n. med. Izabeli Uzar, promotora pomocniczego z Zakładu Farmakologii Ogólnej i Farmakoekonomiki w Pomorskim Uniwersytecie Medycznym, jest opracowaniem dotyczącym określenia roli wybranych polimorfizmów genu OPG w występowaniu osteoporozy pomenopauzalnej.

W badaniach dotyczących biologii kości obszarem rozwijającym się bardzo intensywnie jest genetyka osteoporozy. Jak wynika z prowadzonych badań osteoporoza jest chorobą uwarunkowaną obecnością licznych polimorfizmów tzw. genów kandydujących do rozwoju osteopenii i osteoporozy. Ponadto, zmienność populacyjną osteoporozy określają interakcje czynników genetycznych z czynnikami środowiskowymi.

Badania osteoprotegeryny (OPG), glikoproteiny należącej do rodziny receptorów TNF (*tumor necrosis factor* – czynnik martwicy nowotworu), datują się od końca lat 90, kiedy została opisana jej kluczowa rola w fizjologicznej regulacji osteoklastycznej resorpcji kości. Polimorfizmy genu OPG mogą mieć wpływ na ekspresję jak również na funkcje białka OPG, co może prowadzić do osteoporozy. Mimo intensywnych badań dotyczących osteoporozy, nieliczne są doniesienia dotyczące szeroko zakrojonych, populacyjnych badań polimorfizmu genu OPG.

Tematyka przedstawionej do oceny pracy mieści się w nurcie aktualnie prowadzonych badań, istotnych dla zrozumienia podłoża osteoporozy, uznanej przez WHO za chorobę cywilizacyjną.

Przedstawiona do recenzji rozprawa zawiera wszystkie wymagane części: streszczenie, część teoretyczną, cele pracy, materiał, metody, wyniki, dyskusję, wnioski i piśmiennictwo.

Na uznanie zasługuje bardzo dobrze opracowana **część teoretyczna**, którą czytałam z dużym zainteresowaniem. Autor przedstawił w niej zagadnienia dotyczące osteoporozy, w tym osteoporozy postmenopauzalnej z uwzględnieniem epidemiologii i farmakoeconomiki leczenia. Przedstawił również genetyczne czynniki ryzyka osteoporozy. Szczegółowo omówił aktualne informacje dotyczące szlaku sygnalizacyjnego OPG/RANKL/RANKi (osteoprotegeryna/ligand receptora aktywatora jądrowego czynnika κ B/ receptor aktywatora jądrowego czynnika κ B). Dużo miejsca Autor poświęcił osteoprotegerynie (OPG). Należy podkreślić, że przedstawione wiadomości zostały oparte o bardzo bogate, aktualne i reprezentatywne piśmiennictwo obejmujące 210 pozycji. Doktorant tę część rozprawy wzbogacił o czytelne schematy. Niewątpliwie tak przygotowana część teoretyczna pracy świadczy o dobrym przygotowaniu Autora i o Jego rzetelnej wiedzy. Konsekwencją tak opracowanych rozdziałów wstępnych jest przedstawienie w sposób jasny i precyzyjny celu pracy.

Celem pracy przedstawionej do recenzji jest określenie roli polimorfizmów genu OPG: rs3102735 (-163A>G), rs3134070 (-245 T>G), rs207361 (-950T>C), rs7844539 (A>C), rs2073618 (1181G>C) w występowaniu osteoporozy pomenopauzalnej. Dla realizacji głównego celu Doktorant precyzyjnie określił cztery cele szczegółowe:

1. Określenie częstości występowania wybranych polimorfizmów genu kodującego OPG.
2. Ocenę związku polimorfizmów genu OPG z klinicznymi parametrami obrotu kostnego i progresji osteoporozy.
3. Ocenę badanych wariantów genetycznych genów OPG w etiopatogenezie osteoporozy.

4. Ocenę związku polimorfizmów genu OPG z parametrami densytometrycznymi, częstością występowania osteoporozy i osteopenii w badanej populacji kobiet.

W rozdziale **Materiał i metody** Doktorant opisał materiał badawczy pochodzący od dużej grupy 802 niespokrewnionych kobiet rasy kaukaskiej, które zgłosiły się do szpitala SPSK 1 Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

Na badania była wyrażona zgoda Komisji Bioetycznej PUM. Przeprowadzane badania wykonywane były zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej (GLP — ang. *Good Laboratory Practice*).

Zakwalifikowane kobiety poddano badaniu densytometrycznemu w pracowni densytometrii w Szpitalu Klinicznym nr 1 Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. U kobiet zakwalifikowanych do badań przeprowadzono oznaczenia BMI (ang. *Body Mass Index*) i w zależności od wartości współczynnika T-score (wskaźnika T): określono trzy grupy:

- A. Grupa kontrolna — T-score większy od $-1,0$
- B. Osteopenia — T-score między $-1,0$ a $-2,5$
- C. Osteoporoza — T-score mniejszy od $-2,5$

W tym miejscu zwracam uwagę, że podane informacje na str. 37 nie są zgodne z podziałem na grupy kobiet zakwalifikowanych do badania, przedstawionym w rozdziale 5.1 „Charakterystyka pacjentek zakwalifikowanych do badania”. Wydaje się, że dane z rozdziału WYNIKI powinny być umieszczone w opisie materiału badawczego.

W opisie metod badawczych Doktorant przedstawił metody izolacji materiału genetycznego, metody oznaczania polimorfizmu genu OPG oraz zastosowane metody statystyczne. Poprawność ich nie budzi zastrzeżeń i co najważniejsze, poprawnie przeprowadzone, gwarantują uzyskanie wiarygodnych wyników. Również wybrane programy do przeprowadzanej analizy statystycznej wyników są adekwatne.

Uzyskane **Wyniki** analizy pięciu polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP ang. *single nucleotide polymorphism*) genu *TNFRSF11B* (TNF — ang. *receptor superfamily member 11b*) kodującego osteoprotegerynę, obejmują analizę SNP dla całej badanej grupy kobiet (375 - kontrola, 110 kobiet z osteopenią oraz 317 z osteoporozą). W badanych grupach Autor określił częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmów genu *TNFRSF11B*. Szczegółowo przeanalizował częstość występowania alleli polimorfizmów genu *TNFRSF11B* w grupach kontrolnej i z osteopenią oraz z osteoporozą.

Ważny wynik Autor otrzymał dla polimorfizmu genu OPG rs2073617 (950 T>C), ze statystycznie istotną różnicą w porównaniu częstości występowania w grupach kontrolnej i z osteoporozą. Ta obserwacja wzmocniona jest również przez wyniki analizy asocjacji z ryzykiem wystąpienia osteoporozy dla tego wariantu. Na podkreślenie zasługuje bardzo wnikliwa, z użyciem metod statystycznych, analiza średnich wartości danych klinicznych i densytometrycznych pacjentek z trzech grup, w zależności od badanych wariantów polimorficznych genu *TNFRSF11B*. Dane densytometryczne obejmowały wyniki pomiarów gęstości mineralnej kości (BMD).

Dobrze sformułowane wnioski poprzedza bardzo dojrzała **dyskusja** prowadzona przez Doktoranta, przedstawiająca uzyskane wyniki na tle dokonań innych Autorów. Autor wykazał brak zależności między polimorfizmami genu OPG: rs3102735, rs3134069, rs7844639, rs2073618, a występowaniem osteoporozy pomenopauzalnej.

W świetle zróżnicowanych wyników analizy polimorfizmów genu OPG, uzyskiwanych przez cytowanych autorów, dla różnych populacji, ważne jest wskazanie dla polskiej populacji, że polimorfizm 163 A>G, może być potencjalnie markerem genetycznym odpowiedzialnym za rozwój osteoporozy. Autor w dyskusji podaje, że może to być marker dla osób rasy kaukaskiej.

Doktorant podsumował efekty badań w precyzyjnie sformułowanych wnioskach, dobrze skorelowanych z podanymi wcześniej celami pracy.

Sukcesem Doktoranta jest wykazanie, że polimorfizm genu OPG rs2073617, wpływa istotnie statystycznie na występowanie osteoporozy pomenopauzalnej i może mieć potencjalne znaczenie diagnostyczne w monitorowaniu rozwoju

osteoporozy pomenopauzalnej. Równie ważnym wnioskiem jest stwierdzenie, że allel C polimorfizmu rs2073618 zwiększa gęstość mineralną kości.

W pracy brak jest większych potknięć redakcyjnych. W trakcie kilkakrotnej lektury pracy stwierdziłam tylko nieliczne błędy literowe. Oceniając stronę edytorską pracy chciałabym podkreślić dużą staranność z jaką została przygotowana pełna dokumentacja w postaci 18 rycin i 18 tabel.

Przedstawiona do oceny rozprawa świadczy o bardzo dobrym ogólnym przygotowaniu Autora lek. Filipa Przerwy, który w wysokim stopniu opanował umiejętność krytycznej oceny wyników, wykazując się przy tym nie tylko dobrym zrozumieniem zagadnień teoretycznych, ale także doświadczeniem w badaniach genetycznych.

Niedosyt budzi brak informacji o opublikowaniu wyników przedstawionych w pracy doktorskiej. Życzę Autorowi dobrej publikacji, z wysokim współczynnikiem oddziaływania IF.

Wnioski końcowe

Recenzowaną pracę oceniam wysoko z uwagi na duże walory naukowe i użytkowe. Wyrażam uznanie dla lek. Filipa Przerwy i promotora prof. dr hab. Bogusława Czernego oraz promotora pomocniczego dr n. med. Izabeli Uzar.

Rozprawa doktorska lek. Filipa Przerwy znacznie znakomicie dokumentuje opanowany przez Doktoranta warsztat naukowy, umożliwiający prowadzenie ważnych, poznawczych i aplikacyjnych badań.

Uzyskane wyniki mogą być bardzo pomocne w zrozumieniu patomechanizmów powstawania osteoporozy u kobiet po menopauzie, z możliwością diagnostyki obecności polimorfizmów genetycznych.

W świetle wyżej przedstawionej, pozytywnej oceny recenzowanej rozprawy doktorskiej, stwierdzam, że zostały spełnione wymagania formalne i merytoryczne

stawiane rozprawom doktorskim, zawarte w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2022.574).

Na tej podstawie wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie lek. Filipa Przerwy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Katedra i Zakład Biologii
i Botaniki Farmaceutycznej
Gdański Uniwersytet Medyczny
J. Ochocka
prof. dr hab. Jadwiga Renata Ochocka