

Gdańsk, 12 września 2023 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej**  
**magister Kamili Rydzewskiej**  
**pt. „Analiza związku inwersji genetycznej 16p11.2 z predyspozycją wystąpienia otyłości i**  
**nadwagi w populacji Polski”**

Otyłość uznaje się współcześnie za pandemiczną chorobę przewlekłą o złożonej etiologii, która w istotny sposób przyczynia się do pogorszenia stanu zdrowia społeczeństw, przyczyniając się również do zwiększonego zagrożenia życia. Wg Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), otyłość – definiowana wskaźnikiem masy ciała (BMI; *body mass index*)  $> 30 \text{ kg/m}^2$  - w 2016 r. na świecie występowała u 13 % osób dorosłych, natomiast nadwaga określana jako BMI  $> 25 \text{ kg/m}^2$  u 39 % osób dorosłych. Zjawisko otyłości w podobnej skali dotyczy również dorosłych w Polsce, staje się też coraz większym problemem u dzieci. Szacuje się, że jest głównym czynnikiem behawioralnym utraty lat życia w zdrowiu Polaków, odpowiadając za utratę 25,5 % lat przeżytych w zdrowiu. Stąd, wszelkie analizy mające na celu ustalenie przyczyn częstości występowania otyłości może istotnie przełożyć się na poprawę stanu zdrowia znacznej części społeczeństwa.

Przedstawiona do oceny praca doktorska jest próbą analizy związku występowania inwersji w chromosomie 16 typu 16p11.2 i genów w tym regionie z predyspozycją do otyłości i nadwagi w populacji Polski. W pracy doktorskiej wykorzystano ostatecznie wyniki analizy DNA izolowanego ze śliny od 4722 dawców uznanych za zdrowych (na podstawie przeprowadzonej ankiety) z kolekcji o nazwie POPULOUS - 6047 próbek DNA dawców z terenu całej Polski zebranych w latach 2010-2012 (w badaniu zarejestrowanym jako TESTOPLEK) i przechowywanych w Pracowni Biobanku, Katedry Biofizyki Molekularnej, Uniwersytetu Łódzkiego.

Rozprawa doktorska mgr Kamili Rydzewskiej ma typowy układ dla tego rodzaju opracowań, a proporcje pomiędzy poszczególnymi rozdziałami są odpowiednio zachowane. Układ redakcyjny jak i forma edytorska nie budzą istotnych zastrzeżeń. Praca liczy 124 strony i składa się z 4 rozdziałów z licznymi podrozdziałami. Tekst został wzbogacony licznymi wykresami i tabelami. Praca doktorska jest zakończona streszczeniem w języku polskim i angielskim. W układzie redakcyjnym rozprawy brakuje – zwykle występującego w rozprawie - cennego dodatku w formie wykazu skrótów, co znacznie ułatwiłoby zrozumienie tekstu.

Wstęp rozprawy jest dobrym wprowadzeniem w tematykę badawczą, której dotyczy praca doktorska. Opisano dotychczasowe badania na temat związków pomiędzy inwersjami chromosomowymi u ludzi i predyspozycją do występowania chorób, przywołano przykłady tego typu badań wskazujących na zależności inwersji w chromosomie 9 z niższą płodnością i nieprawidłowym przebiegiem ciąży, inwersjami w chromosomie 16 związanymi z występowaniem astmy i otyłości. Przywołano również przykłady analizy polimorfizmu pojedynczego nukleotydu [*single nucleotide polymorphism(s)*; SNP(s)] związane z rozwojem otyłości. W dalszej części wstępu opisano przyczyny i uwarunkowania demograficzne otyłości, szczególną uwagę poświęcono omówieniu indukowanych otyłością patomechanizmów prowadzących do występowania powikłań sercowo-naczyniowych i choroby nowotworowej. Opisano również obecnie stosowane metody terapeutyczne dla otyłości – zarówno w leczeniu farmakologicznym jak i chirurgicznym. Wstęp zakończony jest wspomnianym powyżej jasno zdefiniowanym celem badawczym pracy doktorskiej.

Na podstawie danych przedstawionych w rozdziale dotyczącym materiałów i metodyki można stwierdzić, że projekt został skonstruowany właściwie. Opis metod daje możliwość powtórzenia postępowania analitycznego dla badań przeprowadzonych w rozprawie doktorskiej. Szczegółowo opisano pozyskanie kolekcji POPULOUS i sposób izolacji DNA z próbek ludzkiej śliny, scharakteryzowano sposoby obliczeń biostatystycznych za pomocą stosownych oprogramowań dla tego typu analiz: PLINK, R statistical platform, a także dwóch innych oprogramowań do bioinformatyki w genetyce: MAFFT i JalView Desktop. Dużą wartością pracy jest dokonanie własnych obliczeń dla autorskiego kodowania w PLINK z zaimplementowanymi różnymi dedykowanymi pakietami skryptu R – zależnie od rodzaju zastosowanych logistycznych modeli statystycznych.

Wykonana analiza biostatystyczna zasługuje na szczególne uznanie, jej efekty przedstawiono dokładnie w „Wynikach” pracy doktorskiej. Rozdział opracowania dotyczący analizy otrzymanych wyników potwierdza sprawność Doktorantki w zakresie prezentacji i obiektywnej analizy otrzymanych rezultatów. W tej części rozprawy można znaleźć liczne ryciny i tabele, które w przejrzysty sposób podsumowują wykonane obliczenia, a także pozwalają dostrzec ważne detaliczne informacje pominięte w opisie wyników. Najważniejszymi poczynionymi obserwacjami statystycznymi w pracy doktorskiej jest to, że wśród 17 badanych SNPs zlokalizowanych w inwersji w chromosomie 16 polimorfizm RS149299 wykazał - w przyjętym modelu recesywnym - istotny związek z otyłością. Ponadto, wykazano wśród badanych polimorfizmów w genach zlokalizowanych w sąsiedztwie inwersji 16p11.2 pojedyncze polimorfizmy, które mają związek z wielkością BMI, a mianowicie: *TUFM*, *CCDC101* i *SPNS1*.

Dyskusja jest zwarta i klarowna, wyniki badań są precyzyjnie omawiane dla zidentyfikowanych polimorfizmów genetycznych pozostających w istotnym związku z otyłością względem innych opublikowanych badań genetycznych. Jest świadectwem biegłości wiedzy, którą zgłębiła Doktorantka w tematyce prowadzonych badań, co potwierdzają 154 trafnie cytowane w rozprawie pozycje piśmiennictwa, a także zdolności wyprowadzania syntetycznych wniosków z mnóstwa danych uzyskanych z różnych logistycznych modeli statystycznych. Doktorantka potrafiła odnieść się krytycznie do uzyskanych własnych wyników badań, a także wskazać część potencjalnych przyczyn i ułomności, które mogły wpłynąć na wniosek końcowy pracy doktorskiej.

Praca doktorska jest przygotowana z bardzo dużą starannością, co nie oznacza, że Doktorantka nie ustrzegła się pewnych błędów. I tak, nazwy genów powinny być zapisywane kursywą, a w zapisie liczb wartości całkowite powinny być oddzielone od liczb dziesiętnych przecinkiem w języku polskim, a nie kropką – jak jest w języku angielskim. Doktorantka nie ustrzegła się też niekiedy stosowania w rażący sposób pewnego rodzaju żargonu językowego, co utrudnia zrozumienie treści, jak np. na stronie 104 w podrozdziale „Limitacje badania”: „Chociaż wydajność DNA jest niższa ze śliny w porównaniu z płynem krwi, odsetek odpowiedzi osób biorących udział w badaniach naukowych jest znacznie wyższy w przypadku pobierania śliny w porównaniu z pobieraniem krwi”.

W ocenie aspektów *stricte* merytorycznych rozprawy doktorskiej istotną ułomnością jest bardzo ograniczony zasób informacji klinicznej o populacji zrekrutowanej do kolekcji POPULOUS. W kontekście badań nad otyłością wskazane byłoby posiadanie informacji np. na temat rodzaju otyłości (androidalna czy gynoidalna ?), stylu życia, diety, panel badań laboratoryjnych, a także oprócz parametru BMI, również charakterystyki składu masy ciała, w tym ilości tkanki tłuszczowej. Z uznaniem należy zauważyć, że sama Doktorantka w końcowej części rozdziału „Dyskusja” jest świadoma ograniczeń zakresu prowadzonych przez siebie badań zależnych od dostępnych informacji z badanej kolekcji, co świadczy o dojrzałości oceny własnych wyników, która nie przyćmiewa młodzieńczy entuzjazm naukowca. Należy zgodzić się też z ogólnym znanym recenzentowi poglądem, któremu hołdują Promotorzy niniejszej rozprawy doktorskiej przy podejmowaniu się zawitych analiz biostatystycznych, że „błędy wynikające z posługiwania się nie w pełni adekwatnymi danymi są znacząco mniejsze, aniżeli te błędy, które powstają na skutek nie korzystania z analizy danych w ogóle”.

Całość pracy oceniam bardzo pozytywnie. Mgr Kamila Rydzewska wykazała bardzo dobre przygotowanie teoretyczne, pełne opanowanie nowoczesnego warsztatu badawczego z bardzo dobrze dobranymi narzędziami biostatystycznymi i bioinformatycznymi zawierającymi elementy nowatorstwa oraz umiejętność krytycznej analizy uzyskanych wyników. Praca zawiera szereg elementów oryginalnych, które mogą być odnoszone zarówno do innych badań analizowanej bazy genomowej, ale także do innych metaanaliz z zakresu

*Genome Wide Association Studies* (GWAS). Po całkowitej ocenie przedstawionej pracy stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, t. j. Dz.U. 2023 poz. 742 z późn. zmianami., dotycząca nadawania stopni i tytułów naukowych. Wnoszę więc do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie mgr Kamili Radzewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. n. med. Leszek Kalinowski