

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu CM w Bydgoszczy

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. Agnieszka Pietruszyńska-Reszetarska nt „Ocena wpływu zaburzeń metylacji uwarunkowanych polimorfizmem genu reduktazy metyltetrahydrofolianowej (MTHFR) na metabolizm folianów (kwas foliowy, 5-MTHF) u pacjentów z chorobą wieńcową”

Choroby układu sercowo-naczyniowego, w tym głównie choroba niedokrwienna serca, są obecnie główną przyczyną umieralności osób w średnim i starszym wieku. Znajomość danych dotyczących charakterystyki klinicznej i diagnostyki chorych z chorobą niedokrwienną serca jest niezbędna do szerokiego wprowadzenia zasad kompleksowej i skutecznej prewencji i zmniejszenia ryzyka wystąpienia ostrych zespołów wieńcowych. Udział genetycznie uwarunkowanych czynników dziedzicznych szacuje się na 40 do 60 procent. Pomimo postępu w diagnostyce oraz leczeniu choroby niedokrwiennej serca nadal poszukuje się genotypowych i fenotypowych markerów tej choroby. Przedstawiona mi do oceny praca została wykonana pod kierunkiem naukowym Pana Profesora Roberta Irzmańskiego z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Rozprawa ma układ typowy dla pracy doktorskiej i posiada wszystkie wymagane elementy strukturalne. Została napisana bardzo starannie pod względem edytorskim, bez błędów i dobrą polszczyzną. Pracę przeczytałem z dużym zainteresowaniem. Dysertacja liczy 158 stron i obejmuje 10 rozdziałów wraz ze streszczeniem w języku polskim, angielskim, wykazem tabel i załącznikami. Piśmiennictwo obejmuje 188 pozycji.

W pierwszej części doktorantka znakomicie przedstawia wybrane aspekty genotypowych i fenotypowych markerów choroby niedokrwiennej serca, opisuje epidemiologię choroby niedokrwiennej serca, patogenezę niedokrwienia mięśnia sercowego, czynniki ryzyka choroby wieńcowej oraz obrazowanie blaszek miażdżycowych.

Opisane zostały nowe obszary poszukiwań biomarkerów choroby wieńcowej. Ta część napisana została w sposób przejrzysty i oceniam ją bardzo wysoko.

Celem pracy była ocena wpływu zaburzeń metylacji uwarunkowanych polimorfizmem genu MTHFR na metabolizm folianów (kwas foliowy, 5-MTHF) u pacjentów z CAD. Ponadto badano wpływ zaburzeń metylacji na stężenie endogennych tioli - cząsteczek zawierających grupę sulfohydrylową: homocysteiny (Hcy), cysteiny (Cys), zredukowanego glutationu (GSH), cysteinyloglicyny (CysGlyc).

Materiał dysertacji obejmował grupę 250 pacjentów z rozpoznaną na podstawie koronarografii CAD. Łącznie pobrano materiał biologiczny (krew pełna żylna) od 213 pacjentów zakwalifikowanych i włączonych do badania od lutego 2020 do października 2022 (projekt realizowano w trakcie trwania pandemii koronawirusa SARS-CoV-2). Uzyskane wyniki pozwoliły na analizę grupy 42 pacjentów oraz 16 badanych w grupie kontrolnej. Grupa badana: 42 pacjentów (CAD+); 38 mężczyzn; 4 kobiety; śr. wiek 53.1 lat; śr. wiek w chwili rozpoznania CAD 47.1 lat, którzy mieli wykonaną koronarografię w trybie planowym lub z powodu ostrego zespołu wieńcowego. Grupa kontrolna: 16 pacjentów (CAD-); 12 mężczyzn; 4 kobiety, bez objawów klinicznych, u których nie stwierdzono przewężeń w tętnicach wieńcowych na podstawie koronarografii lub nie stwierdzono identyfikowalnej blaszki miażdżycowej w badaniu metodą wielorzędowej tomografii komputerowej mięśnia sercowego z oceną wskaźnika uwapnienia tętnic wieńcowych (CAC Scoring). Objętą badaniem populację podzielono ze względu na obecność choroby wieńcowej (CAD+) oraz od obecności wariantów polimorficznych genu MTHFR

warunkujących występowanie zaburzeń metylacji (IM+).

Metody badawcze zastosowane w dysertacji zawierały oznaczenie polimorfizmów genu MTHFR z krwi pełnej żyłnej metodą łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (real-time PCR) z zastosowaniem sond TaqMan™. Identyfikowano następujące genotypy: c.[665C=];[665C=] (oba allele typu „dzikiego”); c.[665C>T];[665C=] (heterozygota, jeden allel z polimorfizmem); c.[665C>T];[665C>T] (homozygota, oba allele z polimorfizmem) oraz c.[1286A=];[1286A=] (oba allele typu „dzikiego”); c.[1286A>C];[1286A=] (heterozygota, jeden allel z polimorfizmem); c.[1286A>C];[1286A>C] (homozygota, oba allele z polimorfizmem). Oznaczanie stężeń kwasu foliowego i 5-MTHF w surowicy krwi wykonywano metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (Liquid Chromatography – Mass Spectrometry, LC-MS). Oznaczanie stężeń endogennych tioli w surowicy krwi (Hcy, Cys, CysGly, GSH) wykonywano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Analiza statystyczna wykonana była przy użyciu programu Statistica v. 12.5 oraz „nakładki” do programu Excel: Resampling Stats Add-in for Excel v.4.

Wyniki otrzymanych badań doktorantka przedstawiła w tabelach i na wykresach. Opis wyników jest kompletny i precyzyjny. Dla wykazania słuszności celu głównego Doktorantka skonfrontowała wyniki z dostępnym angielskojęzycznym i polskojęzycznym piśmiennictwem znakomicie dobranym, dającym dowody znajomości problemu. Dyskusja udowodniła celowość tego rodzaju badań, potwierdziła przydatność wykorzystanej metodologii w pracy, co powoduje, że praca stanowi wartościową pozycję naukową zarówno dla medyków jak i genetyków. Doktorantka przedstawiła następujące wnioski: zaburzenia metylacji uwarunkowane polimorfizmem genu MTHFR (IM+) występują częściej u pacjentów z chorobą wieńcową (CAD+) w porównaniu do populacji bez choroby wieńcowej (CAD-). Wyniki tego badania wykazały, że polimorfizm c.[1286A>C];[1286A>C] genu MTHFR (homozygota c.1286 A>C) występował istotnie statystycznie częściej u pacjentów z grupy (CAD+) w porównaniu do pacjentów

(CAD-). Dodatkowo w niniejszym badaniu stwierdzono, że ten homozygotyczny wariant występuje istotnie statystycznie częściej u pacjentów (CAD+) w porównaniu do populacji europejskiej HapMap – CEU wybranej do porównania statystycznego z bazy danych NCBI. Zaobserwowano również częstsze występowanie allelu C (polimorficznego, występującego w homozygotocie c.[1286A>C];[1286A>C] i w heterozygotocie c.[1286A>C];[1286A=]) w grupie pacjentów (CAD+). W niniejszym badaniu stwierdzono, że wariant homozygotyczny c.1286 A>C genu MTHFR występuje istotnie częściej u pacjentów z grupy (CAD+) i można go rozpatrywać w kategoriach markera genetycznego choroby wieńcowej. Brak istotności różnic pomiędzy grupami z chorobą wieńcową i bez choroby wieńcowej w zakresie pozostałych polimorfizmów genu MTHFR ze względu na małą liczebność grup uniemożliwia doprecyzowanie wniosków w tym zakresie. Nadal konieczne są dalsze badania na większej liczbie pacjentów w celu wyjaśnienia roli polimorfizmów genu MTHFR w chorobie wieńcowej.

Nie mam uwag krytycznych dotyczących pracy. Pragnę pogratulować Doktorantce wyboru aktualnego tematu badawczego. Przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wymagania stawiane rozprawą doktorskim na stopień doktora nauk medycznych zgodnie z art. 13 ustęp 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki wraz z późniejszymi zmianami. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. Agnieszka Pietruszyńska-Reszetarska do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnioskuje o wyróżnienie pracy.

1953663 Prof. dr hab. n. med. Aleksander Góch
Specjalista chorób wewnętrznych,
kardiolog, kardiologiczna logii
94-235 Łódź, ul. Żurajna 1
tel. 605 360 369