GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
KATEDRA I KLINIKA PEDIATRII, DIABETOLOGII I ENDOKRYNOLOGII

80-211 Gdańsk ul. Dębinki 7
Kierownik Kliniki : Prof. dr hab. n. med. MAŁGORZATA MYŚLIWIEC
e-mail: malgorzata.mysliwiec@gumed.edu.pl.

Tel. (48-58) 349-28-98
Fax: (48-58) 349-28-48

Gdańsk, dnia 06.10.2021 r.

Recenzja

pracy na stopień doktora nauk medycznych

lek. Sandry Mrozińskiej

p.t. „Jakościowe i ilościowe parametry jelitowej flory bakteryjnej u chorych z mono- i wielogenowymi formami cukrzycy"

Wiodącym tematem w pracy badawczej lek. Sandry Mrozińskiej były badania nad rolą jelitowej flory bakteryjnej w patogenezie i przebiegu klinicznym u pacjentów z mono- i wielogenowymi formami cukrzycy. Coraz częściej podkreśla się związek mikrobioty jelitowej w organizmie człowieka z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej. Natomiast dotychczas nie porównano mikrobioty okrężnicy między osobami z cukrzycą monogenową związaną z mutacją w genie HNF1A, osobami z T2DM i osobami zdrowymi. Doktorantka słusznie założyła, że wykazanie różnic w składzie mikrobioty okrężnicy pomiędzy tymi grupami mogłoby oznaczać, że istnieje związek pomiędzy składem mikrobioty, jako środowiskowego czynnika ryzyka, a rozwojem i przebiegiem klinicznym określonych form cukrzycy.
Dlatego wartość badań podjętych przez lek. Sandrę Mrozińską zakończonych cyklem prac pod tytułem „Jakościowe i ilościowe parametry jelitowej flory bakteryjnej u chorych z mono- i wielogenowymi formami cukrzycy, stanowiącą ważny element w wyjaśnianiu problemów związanych z tym zagadnieniem.

Redakcja przedłożonej pracy, poprawność metodyczna, wartość merytoryczna przedstawionych wyników, ocena wniosków pracy.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska rozpoczyna się od obszernego wprowadzenia, w którym na kolejnych stronach Doktorantka wprowadza czytelnika w aktualny przegląd zagadnień związanych z tematyką pracy takich jak: epidemiologia,

patogeneza i leczenie cukrzycy typu 1, typu 2 i cukrzycy monogenowej związanej z mutacją w genie hepatocytowego czynnika jądrowego 1 alfa podkreślając rolę mikrobionty jelitowej w organizmie człowieka. Lek. Sandra Mrozińska opisuje jak nowoczesne technologie wskazały nowe możliwosci diagnostyczno-poznawcze mikroorganizmów w przewodzie pokarmowym. Wstęp pracy doktorskiej kończy się przedstawieniem aktualnej wiedzy na temat mikrobionty u pacjentów chorych na cukrzycę, wpływ jej na wyrównanie metaboliczne z uwzględnieniem stosowanych leków przecicukrzycowych, takich jak metforminy, inhibitorów DPP-4.

Cykl prac, na podstawie którego powstała rozprawa doktorska składa się z trzech spójnych tematycznie artykułów, poświęconych ocenie parametrów mikrobioty jelitowej u chorych z mono- i wielogenowymi formami cukrzycy.

Wszystkie artykuły zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach medycznych, indeksowanych w bazie PubMed, o łącznym wskaźniku oddziaływania *impact factor, IF* wynoszącym 6,869 pkt. i punktacji MNiSW wynoszącej 65 pkt. Zgodne oświadczenie współautorów wskazuje na to, że wkład Doktorantki zarówno w opracowanie koncepcji badań, jak i ich wykonanie jest dominujący lub znaczący. Lek. Sandra Mrozińska jest pierwszym autorem wszystkich 3 prac wchodzących w skład cyklu. Wartość naukowa zawartych w rozprawie doniesień nie pozostawia wątpliwości. Dwie z nich zostały opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej, a jedna w renomowanym czasopiśmie diabetologicznym, co oznacza, że z powodzeniem przeszły gęste sito recenzji poszczególnych redakcji. Artykuły zawierają wyniki badań przeprowadzonych przy współpracy Katedry i Kliniki Chorób Metabolicznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakładu Molekularnej Mikrobiologii Medycznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz Ośrodka Genomiki Medycznej –OMIICRON Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Badania były współfinansowane przez Unię Europejską z Funduszu Rozwoju Regionalnego, program „Generacja Przyszłości" (umowa nr DS – 1542/HF/2013), EFSD (New Horizons Programme award) oraz Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego (K/DSC/003560). Na przeprowadzenie badań ujętych w pracy doktorskiej uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego (KBET/272/B/2013 oraz KBET/256/B/2014).

Głównym celem przedstawionego cyklu prac była ocena jakościowa i ilościowa parametrów mikrobioty jelitowej u chorych z mono- i wielogenowymi formami cukrzycy.

Cel pracy był realizowany poprzez porównanie parametrów mikrobioty okrężnicy z pojedynczej próbki kału między pacjentami z cukrzycą typu 2 i cukrzycą monogenową HNF1A MODY (Publikacja I).

Oryginalną częścią realizacji postawionego celu pracy było ponadto:

1. Porównanie struktury mikrobioty przed i po dołączeniu do aktualnego leczenia cukrzycy linagliptyny (Publikacja II).
2. Porównanie struktury mikrobioty w grupie pacjentów z T1DM, leczonych za pomocą osobistej pompy insulinowej w zależności od wyrównania metabolicznego cukrzycy (Publikacja III).
3. Porównanie szlaków metabolicznych mikrobioty u pacjentów z T1DM w zależności od wyrównania metabolicznego cukrzycy (Publikacja III).

Wyznaczone cele Doktorantka realizowała dzięki dokładnie opisanej przemyślanej metodyce badań oraz przeprowadzonej adekwatnej, wnikliwej, nowoczesnej analizie statystycznej, przedstawionych w artykułach stanowiacych cykl prac.
Z wynikami badań recenzent mógł się zapoznać w przedstawionym opisie wstępnym recenzowanego cyklu prac jak i w kopiach oryginalnych publikacji prac w czasopismach:

1. *Qualitative parameters of the colonic flora in patients with HNF1A-MODY are different from those observed in type 2 diabetes mellitus.* **Mrozinska S**, Radkowski P, Gosiewski T, Szopa M, Bulanda M, Ludwig-Galezowska AH, Morawska I, Sroka-Oleksiak A, Matejko B, Kapusta P, Salamon D, Malecki MT, Wolkow P, Klupa T. *J Diabetes Res.* 2016; 2016: 3876764. doi:10.1155/2016/3876764. **(IF = 2,717, punkty MNiSW = 25)**

2. *The effect of linagliptin treatment on gut microbiota in patients with HNF1A-MODY or type 2 diabetes — a preliminary cohort study.* **Mrozińska S**, Gosiewski T, Sroka-Oleksiak A, Szopa M, Bulanda M, Malecki TM, Klupa T. *Clinical Diabetology* 2019; 8(6): 263-270. doi: 10.5603/DK.2019.0024. **(punkty MNiSW = 20)**

3. *The gut microbiota profile according to glycemic control in type 1 diabetes patients treated with personal insulin pumps.* **Mrozinska S**, Kapusta P, Gosiewski T, Sroka-Oleksiak A, Ludwig-Gałęzowska AH, Matejko B, Kiec-Wilk B, Bulanda M, Malecki MT, Wolkow P, Klupa T. *Microorganisms* 2021; 9(1): 155. doi: 10.3390/microorganisms9010155. **(IF = 4,152, punkty MNiSW = 20)**

Ad 1.

W manuskrypcie pierwszym porównano mikrobiotę okrężnicy, ocenionej z pojedynczej próbki kału, pomiędzy pacjentami z T2DM (n = 23) oraz pacjentami z cukrzycą monogenową związaną z mutacją w genie HNF1A (n = 10). Pragnę podkreślić, że opisane badanie było pionierskie z uwagi na uwzględnienie w nim cukrzycy monogenowej związanej z mutacją w genie HNF1A. Wyniki badań w tej pracy wykazały różnice w mikrobiocie pomiędzy grupami na różnych poziomach taksonomicznych. W mikrobiocie pacjentów z cukrzycą monogenową HNF1A MODY w stosunku do mikrobioty osób z cukrzycą typu 2 wykazano większy względny odsetek bakterii klasy Erysipelotrichi, rzędu Turicibacterales, Erysipelotrichales, rodziny Clostridiaceae, Turicibacteraceae, Erysipelotrichaceae, niesklasyfikowanego rodzaju należącego do rodziny Clostridiaceae i rodzaju *SMB53* (rodzina Clostridiaceae).

Pomimo opisanych przez Doktorantkę ograniczeń pracy można wstępnie wnioskować, że struktura mikrobioty okrężnicy u chorych z cukrzycą HNF1A MODY różni się od obserwowanej w cukrzycy typu 2.

Ad 2.

W drugim artykule także zastosowano nowatorskie metody, po raz pierwszy porównano strukturę mikrobioty jelitowej pacjentów przed i po czterech tygodniach od optymalizacji leczenia cukrzycy w zależności od zastosowanego leczenia. Do pierwszej grupy zakwalifikowano 9 pacjentów, u których do dotychczasowego leczenia cukrzycy dołączono linagliptynę, a do drugiej grupy 15 pacjentów, u których intensyfikacja leczenia uwzględniała pochodną sulfonylomocznika. Nie wykazano istotnych różnic w zakresie struktury mikrobioty pomiędzy badanymi grupami w zakresie stosowanych leków. Doktorantka słusznie wstępnie przypuszcza, że linagliptyna nie wywołuje gruntownych zmian w strukturze mikrobionty jelita grubego.

Ad 3.

W trzeciej publikacji Doktorantka dokonała porównania mikrobionty u pacjentów z cukrzycą typu 1 w zależności od wyrównania metabolicznego choroby. Grupa pierwsza objęła 46 pacjentów z T1DM i poziomem HbA1c ≥ 7%, drugą grupę stanowiły 43 osoby z T1DM i poziomem HbA1c 7%. Pacjenci z lepszym wyrównaniem metabolicznym cukrzycy charakteryzowali się dominacją białek biosyntezy lipidów na podstawie KEGG. Doktorantka wyjaśniła, że Szlak ten obejmuje szlak acetylokoenzymu A (CoA), który jest głównym szlakiem napędzanym węglowodanami. CoA ulega konwersja do kwasu butanowego, który z kolei jest niezbędny dla wzrostu bakterii i głównym źródłem energii dla komórek okrężnicy. Lek. Sandra Mrozińska postawiła słuszne 2 hipotezy na temat wpływu wyrównania

metabolicznego na mikrobiotę przewodu pokarmowego w tej grupie pacjentów. Pierwsza, w której wysokie wartości glikemii powodują wzrost bakterii odpowiedzialnych za metabolizm węglowodanów i pomagają w wyrównaniu metabolicznym pacjentów z wyjściowo prawidłową mikrobiotą jelitową. Druga, w której wysokie wartości glikemii powodują taką zmianę w strukturze mikrobioty przewodu pokarmowego, która utrudnia powrót do prawidłowej struktury mikrobioty, uniemożliwiając przy tym lub pogarszając wyrównanie metaboliczne pacjentów.

Szczególne uznanie recenzenta wzbudziły dyskusje przedstawionych w cyklu artykułów, w których Doktorantka błyskotliwie interpretuje uzyskane przez siebie wyniki badań, zestawiając je w kontrpropozycjach do osiągnięć najważniejszych badaczy z omawianego tematu, publikujących na całym świecie. Podkreślić należy swobodę i łatwość zestawiania kluczowych problemów, wynikających z oceny uzyskanych w badaniach wyników z opiniami innych autorów. Należy również podkreślić, że w omawianych pracach Doktorantka nie tylko przedstawiała zalety swoich badania, ale wskazywał również na ich ograniczenia oraz perspektywy dalszych badań.

Całość pracy wieńczy 90 pozycji aktualnego i starannie dobranego *Piśmiennictwa*, oraz zwięzłe i rzetelne *Streszczeniem*, dopełnionych właściwymi spisami skrótów ,kopiami publikacji oraz oświadczeniami współautorów prac.

W ocenianej pracy Recenzent nie ma uwag.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska lek. Sandry Mrozińskiej, którą przedstawiła w cyklu 3 prac spełnia formalne wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych. Pragnę ponadto podkreślić, że przedstawione w nich wyniki badań mają duża wartość nie tylko naukowa, ale i kliniczną. Uznanie recenzenta budzi duża wiedza, wnikliwość naukowa, umiejętność działania w zespołach badawczych, które pozwoliły na prawidłowo zaplanowane i przeprowadzone badania przy umiejętnym wykorzystaniu nowoczesnych metod badawczych. Przedstawiona rozprawa doktorska lek. Sandry Mrozińskiej odpowiada w pełni warunkom stawianym pracom na stopień doktora nauk medycznych, dlatego wnioskuję o dopuszczenie lek. Sandrę Mrozińską do dalszych etapów obrony pracy doktorskiej, według stosownych wymagań i przepisów prawa Rady Dyscypliny Nauk medycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Równocześnie z uwagi na unikatowy charakter prac przedstawionych przez Doktorantkę, ich wartość naukową i praktyczną wnoszę o jej wyróżnienie.

K I E R O W N I K
Katedry i Kliniki Pediatrii,
Diabetologii i Endokrynologii
Gdański Uniwersytet Medyczny

prof. dr hab. n. med. Małgorzata Myśliwiec