

Warszawa, 10 września 2023 r.

Dr hab. inż. Iwona Traczyk
Kierownik Zakładu Żywienia Człowieka
Wydział Nauk o Zdrowiu
Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Ocena rozprawy doktorskiej
mgr Magdaleny Sot-Szewczyk**

**„Analiza polimorfizmu w genie FTO oraz jego związek ze sposobem żywienia
i stanem odżywienia w wybranej grupie osób”**

Promotor pracy: prof. dr hab. Wiesław Przybylski

Promotor pomocniczy: dr hab. Joanna Myszkowska-Rygiak, prof. SGGW

UWAGI WSTĘPNE

Problem występowania nadmiernej masy ciała dotyczy większości populacji świata. Nadwaga, będąca stanem przedotyłościowym i otyłość ciężka choroba metaboliczna stały się przedmiotem licznych interwencji, programów edukacyjnych i badań naukowych. Jednym z kierunków badań naukowych jest poszukiwanie związku pomiędzy występowaniem otyłości, a genotypem. Zidentyfikowano wiele genów, w których zmiany epigenetyczne czy polimorfizmy pojedynczych nukleotydów mogą stanowić czynnik ryzyka rozwoju tej choroby. Wśród tych genów wymienia się gen FTO, obecny na 16 chromosomie, w którym polimorfizm pojedynczego nukleotydu prowadzi do powstania wariantu AA, lub AT w miejsce TT. (A-adenina, T-tyrozyna). Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że osoby będące nosicielami wariantów A są bardziej narażone na rozwój otyłości. Warto jednak zaznaczyć, że sama predyspozycja genetyczna nie warunkuje rozwoju otyłości, na której powstanie wpływają w dużej mierze modyfikowalne czynniki stylu życia, jak: sposób żywienia,

poziom aktywności fizycznej, palenie tytoniu, długość i jakość snu, przyjmowane leki i wiele innych.

Mimo wielu doniesień naukowych, z obszaru podjętego przez Doktorantkę, nadal istnieje potrzeba badań w tym zakresie w różnych populacjach. Z tego powodu podjęty przez Panią mgr Magdalenę Sot-Szewczyk temat badania uważam za ważny zarówno z naukowego, jak i społecznego punktu widzenia.

OCENA FORMALNA PRACY

Praca doktorska została przygotowana w tradycyjnej formie rozprawy doktorskiej.

Liczy 100 stron (bez aneksu). Rozpoczyna się streszczeniem w języku polskim i angielskim, po którym Autorka podała spis treści rozprawy, a następnie wykaz stosowanych skrótów. Kolejne rozdziały pracy obejmują: Wstęp; I. Cel i zakres pracy; II. Przegląd piśmiennictwa obejmujący 27 stron maszynopisu; Rozdział III. Materiał i metody; IV. Wyniki i dyskusja (26 stron), V. Podsumowanie, stwierdzenia i wnioski (8 stwierdzeń i wniosków); VI. Spis piśmiennictwa obejmujący 146 pozycji. Aneks zawiera: rycinę na której zaznaczono położenie genu FTO na chromosomie 16; instrukcję przygotowania się do badania składu ciała, procedurę pobierania prób DNA metodą wymazów, protokół izolacji DNA, kartę pacjenta wypełnianą podczas I spotkania, Ankiety uzupełniającą do badania genetycznych przyczyn otyłości, Formularz świadomej zgody na badania, Dzienniczek żywienia (3 dniowe bieżące notowanie), kwestionariusz zawierający szereg pytań dotyczących danych socjodemograficznych, żywienia, aktywności fizycznej stanu zdrowia, kwestionariusz częstotliwości spożycia żywności FFQ-6. Po aneksie Pani mgr umieściła rozdział VIII. Spis tabel (13) i rycin (19).

Układ pracy odbiega od typowego. Cel został umieszczony tuż po wstępie. Pewnym uzasadnieniem takiej decyzji może być fakt, że w tym rozdziale Doktorantka informuje czytelnika o zawartości przeglądu piśmiennictwa. W moim przekonaniu podanie tej informacji w spisie treści byłoby wystarczające. Spis treści jest dość ogólny podaje główne tytuły rozdziałów, nie uwzględnia śródtytułów. W pracy umieszczono obszerny aneks. Zabrakło w spisie treści informacji o jego zawartości, pozwoliłoby to czytelnikowi na łatwiejsze poszukiwanie poszczególnych jego części, a Autorce na lepsze uporządkowanie tej części pracy i na uniknięcie nieścisłości, jak choćby ta, że formularz świadomej zgody na badania – posiada oznaczenie Załącznik 1- chociaż jest to kolejny punkt Aneksu, pozostałe części nie zostały opatrzone numerami. Dość

zaskakujące jest umieszczenie po Aneksie rozdziału VIII. Spis tabel i rycin, zazwyczaj Aneks jest ostatnią częścią pracy, a jeżeli nie to kolejne po aneksie części nie są opatrzone numeracją z głównej części pracy.

OCENA MERYTORYCZNA PRACY

Doktorantka sformułowała jeden cel pracy oraz 3 hipotezy badawcze. Za cel pracy przyjęła „...oszacowanie częstości występowania polimorfizmu rs939609 w genie FTO oraz jego powiązania ze sposobem żywienia i stanem odżywienia w badanej grupie osób dorosłych”.

Postawiła 3 hipotezy badawcze:

- 1) W wybranej populacji występuje polimorfizm rs993609 w genie FTO
- 2) Istnieje powiązanie polimorfizmu rs993609 w genie FTO z nadmierną masą ciała.
- 3) Poszczególne warianty w genie FTO są powiązane ze sposobem żywienia i stanem odżywienia badanej populacji.

Cel pracy Pani mgr Sot-Szewczyk umieściła tuż po wstępie, nie podała jaka grupa osób będzie objęta badaniem, posługiwała się wyrażeniem „w wybranej grupie osób dorosłych”, co niestety jest zbyt ogólne i zmusza czytającego do poszukiwania tej informacji w odległym rozdziale: Materiał i metody. W rozdziale: Cel prac znalazł się fragment, który można odczytać jako podsumowanie badań. („Uzyskane wyniki dostarczyły informacji dotyczących możliwej skali otyłości uwarunkowanej polimorfizmem rs993609 genu FTO na podstawie jego wpływu na sposób żywienia i stan odżywienia oraz częstości jego występowania w badanej grupie osób z prawidłową i nadmierną masą ciała”).

Mgr Magdalena Sot-Szewczyk dokonała obszernego przeglądu światowego piśmiennictwa opartego o 146 pozycji, z których połowa pochodzi z ostatnich 8 lat. Rozdział rozpoczyna się przedstawieniem sposobu żywienia i stanu odżywienia polskiej populacji, w tym niemowląt, dzieci i młodzieży oraz osób dorosłych. Ponieważ praca dotyczy osób dorosłych zamieszczenie w przeglądzie piśmiennictwa podrozdziału dotyczącego niemowląt, małych dzieci i młodzieży nie było konieczne. Rozdział „Ocena sposobu żywienia i stanu odżywienia osób dorosłych” jakkolwiek bardzo ważny to wg mnie nie było potrzeby opisywania uzasadnień, którymi kierowali się Autorzy/institucje cytowanych badań, a nawet szczegółowych opisów doboru

osób badanych, jak również programów w ramach których realizowano badania - wystarczyło podać źródło. Warto było także pokusić się o rozdzielenie wiadomości dotyczących sposobu żywienia od stanu odżywienia, co ułatwiłoby śledzenie zachodzący zmian w czasie lub nazwanie rozdziału „Realizowane w Polsce badania sposobu żywienia i stanu odżywienia” - zamiast „Ocena sposobu żywienia i stanu odżywienia osób dorosłych”). W rozdziale „Dietozależne choroby niezakaźne” Doktorantka podała podrozdziały: otyłość, cukrzyca typu 2, choroby układu sercowo-naczyniowego. Zawarła w nich wiele cennych informacji, ale szkoda, że zwłaszcza w odniesieniu do otyłości zostały one „przykryte” szczegółowymi informacjami o metodach i kryteriach oceny stanu odżywienia, które są znane i wystarczyło podać źródła, bądź zawrzeć je w osobnym podrozdziale. Podrozdział Choroby układu sercowo-naczyniowego nie był konieczny, ale jeśli już Doktorantka się na niego zdecydowała, to szkoda, że potraktowała temat bardzo pobieżnie, (1/2 strony maszynopisu) w ogóle nie odnosząc się do sytuacji w Polsce.

Kolejny rozdział przeglądu piśmiennictwa „**Czynniki warunkujące nadmierną masę ciała**” proponowałabym nazwać „Czynniki ryzyka nadmiernej masy ciała” ze względu na fakt, że czynniki środowiskowe i genetyczne sprzyjają otyłości ale jej nie determinują. Doktorantka w oparciu o światowe piśmiennictwo przedstawiła czynniki ryzyka otyłości. Podkreślenia wymaga zwrócenie uwagi doktorantki na rzadko rozpatrywany czynnik ryzyka otyłości jakim jest sztuczne światło nocne. Może mieć on szczególne znaczenie w populacjach osób pracujących w nocy, czy ogólnie prowadzących nocny tryb życia. Oddzielny podrozdział przeglądu piśmiennictwa Pani Magister poświęciła genowi FTO i jego polimorfizmom. W wystarczający sposób przedstawiła to zagadnienie bazując na piśmiennictwie światowym z ostatnich lat. Poruszyła także kwestię innych genów, które mogą mieć związek z rozwojem otyłości. Warto podkreślić umieszczenie w pracy ciekawego podrozdziału dotyczącego otyłości monogenowej mającej związek z mutacjami genów kodujących białka szlaku melankortynowego.

Przegląd piśmiennictwa kończy podrozdział „Strategie diagnostyczne” , w którym Doktorantka dostrzegła brak jednoznacznych zaleceń dotyczących diagnozowania otyłości w oparciu o badania genetyczne. Rozdział kończy się podaniem strony internetowej do firmy oferującej badania genetyczne. W moim przekonaniu jakiegokolwiek reklamowanie firm oferujących w interesie tego rodzaju badania jest niewskazane. Wnioski z wyników badań mogą być niewłaściwie przedstawione osobie badanej, co może spowodować bardzo różne, poważne reakcje. Ponadto firmy te po

tego typu badaniach bardzo często oferują zalecenia dietetyczne, opracowywane przez osoby bez właściwego wykształcenia. Poza tym rozsyłanie materiału genetycznego nie jest, ani bezpieczne dla osoby to czyniącej, ani właściwe. Tego typu badania muszą być prowadzone pod nadzorem, a wnioski stawiane bardzo ostrożnie.

W rozdziale Materiał i metody Autorka poinformowała, że na przeprowadzenie badań uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej przy Instytucie Żywności i Żywienia w Warszawie oraz pisemne zgody uczestników na udział w badaniu.

Na dwóch rycinach przedstawiła odpowiednio: Schemat badania opracowany na podstawie „The PRISMA 2022 statement” oraz Schemat spotkań z uczestnikami badania, co znacznie ułatwia śledzenie treści badania i podejmowanych działań. W ramach badań Pani Magister zastosowała wiele narzędzi i procedur badawczych, w tym: kwestionariusze ankiety, pomiary antropometryczne oraz badania genetyczne. Doktorantka zbierała informacje o stanie zdrowia badanych osób, elementach stylu życia, występowania otyłości w rodzinie, sposobie żywienia na podstawie kwestionariusza częstotliwości spożycia żywności oraz trzydniowego bieżącego notowania. Wykonywała pomiary antropometryczne: masy i wysokości ciała oraz obwodów talii i bioder, a także badania składu ciała metodą impedancji elektrycznej. W ramach pracy przeprowadzono także badania genetyczne w kierunku identyfikacji polimorfizmów genetycznych w genie FTO. Pani Magister starannie opisała zastosowane metody antropometryczne, szczegółowo opisując warunki w jakich prowadziła badania. Przedstawiła także sposób prowadzenia badań żywieniowych oraz opracowywania wyników. W następnej kolejności opisała przebieg badań genetycznych, zwracając uwagę na ważne elementy tej procedury, poczynając od pobrania materiału genetycznego poprzez szczegółowy przebieg analizy.

Badanie zostało przeprowadzone w grupie 112 osób (83 kobiety, 29 mężczyzn) między 18, a 65. rokiem życia, charakteryzujących się prawidłową lub nadmierną masą ciała pacjentek Poradni Dietetycznej Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW oraz centrum Medycznego Kells w Nowym Sączu (tak można sądzić z przedstawionej treści).

Doktorantka zastosowała następujące kryteria wykluczenia z badania: wcześniejsze chirurgiczne lub farmakologiczne leczenie otyłości, stosowanie diety wpływającej na zwyczajowy sposób żywienia, stwierdzone zaburzenia odżywiania (anoreksja, zespół kompulsywnego objadania się, bulimia), stwierdzona epilepsja, wszczepiony rozrusznik serca, stwierdzone zaburzenia hormonalne (choroby

tarczycy, nadnerczy, gonad), ciąża, wiek poza określonym zakresem 18-65 lat oraz niezdolność do świadomego wyrażenia zgody na udział w badaniu.

Wysoko należy ocenić przeprowadzenie badania pilotażowego w grupie 30 osób, które zostały włączone do badania głównego, co z pewnością pozwoliło na dopracowanie narzędzi badawczych. Uwagę zwróciła pewna nieścisłość, a mianowicie na schemacie badania, w części dotyczącej oceny sposobu żywienia (badanie pilotażowe) nie znalazła się informacja o badaniu w oparciu o 3-dniowe notowanie spożycia żywności, czy to oznacza, że to badanie było wykonywane u 82 osób?. Również oznaczenie kwestionariusza częstotliwości spożycia żywności jest różne w różnych miejscach pracy, raz jest to „FFQ” innym razem „FFQ-6”, warto to poprawić przy składaniu pracy do druku. Biorąc pod uwagę szerokie kryteria wykluczenia szkoda, że nie podano liczby osób spośród których rekrutowano osoby badane. Ponadto przy badaniach prowadzonych u ludzi warto pisać o grupie badanej, a nie materiale.

Warto podkreślić duży wkład Pani Magister w prowadzone badania, z przedstawionych informacji wynika bowiem, że z każdą z badanych osób spotkała się dwukrotnie, a każde spotkanie wymagało czasu na przeprowadzenie badań (opisanych na rycinie 4), a podczas drugiego spotkania także na udzieleniu informacji osobie badanej o wynikach analizy składu ciała i badań genetycznych.

Rozdział „Wnioski i dyskusja”, obejmuje 27 stron, na których zawarto 14 rycin i 9 tabel. Rozpoczyna się stwierdzeniem, że cel badania został zrealizowany, a wyniki pozwalają na weryfikację postawionych hipotez. Następnie opisano technikę real time PCR, wg mnie ta część pracy powinna się znaleźć w rozdziale Metody, a dodatkowo powinna być uzupełniana informacją które warianty genu FTO są uważane za czynniki ryzyka otyłości (Autorka wspominała o tym w przeglądzie piśmiennictwa – str. 33).

Pomimo, że Doktorantka przeprowadziła szerokie badania antropometryczne, a także dotyczące stylu życia i warunków socjo-demograficznych, to w pracy zabrakło charakterystyki badanej grupy. W dysertacji nie podano informacji o liczbie osób z nadmierną i prawidłową masą ciała, czy chociażby z ryzykiem otyłości brzusznej (pomiar talii i bioder oraz odpowiednie wskaźniki). Warto będzie wykorzystać te dane przygotowując publikację do druku.

W rozdziale „Wyniki i dyskusja”, ze względu na szeroki wachlarz badań, znalazło się kilka podrozdziałów, szkoda, że ich tytuły nie znalazły się w Spisie treści, co znacznie ułatwiłoby śledzenie wyników.

Odnosząc się do wyników badań należy podkreślić ich wagę i znaczenie dla rozwoju wiedzy o częstości występowania polimorfizmu rs993609 w genie FTO oraz jego związku ze sposobem żywienia i stanem odżywienia osób dorosłych w populacji polskiej. Jak dotychczas w Polsce niewiele jest takich badań, dlatego uzyskane wyniki stanowią ważny wkład do nauki.

Doktorantka stwierdziła, że w badanej grupie wystąpiły wszystkie 3 genotypy powiązane z polimorfizmem rs993609 w genie FTO, w tym blisko 18% to nosiciele wariantu AA, ponad 56% wariantu TA, u pozostałych blisko 26% osób występował wariant TT. Analiza statystyczna rozkładów genotypów wykazała w opinii Doktorantki, występowanie w badanej grupie równowagi genetycznej zgodnie z prawem Hardy’ego-Weinberga. W pracy zabrakło źródła do tego prawa, jak również samego prawa. Na stronie 57 pracy czytamy „Allel A występował u niemal 46% badanych (45,99%), podczas gdy allel T u 54%”, z tabeli 5 w której podano liczbę i odsetek osób o poszczególnych genotypach wynika inny rozkład wartości, proszę o wyjaśnienie.

W tabeli 7 Pani Magister przedstawiła rozkład badanych wariantów genetycznych u krewnych z nadmierną masą ciała badanych osób. Stwierdziła, że częstsze występowanie otyłości u krewnych osób badanych występuje u heterozygot AT, co wskazuje na potrzebę dalszych badań w tym obszarze. Analiza wyników z zastosowaniem korelacji porządku rang Spearmana wykazała istotne powiązanie występowania nadmiernej masy ciała u rodzeństwa oraz matek osób badanych z genotypem ryzyka. Na podstawie badań ankietowych Doktorantka stwierdziła występowanie tendencji do częstszego deklarowania występowania nadmiernej masy ciała w linii żeńskiej.

Doktorantka wykazała zależność pomiędzy występowaniem allela A z nadmierną masą ciała. Stwierdziła wpływ występowania allela A na wartość wskaźnika BMI ale przy dużej zmienności w badanych grupach.

Badając związek występowania alleli ryzyka ze stanem odżywienia Pani Magister nie wykazała istotnego związku, aczkolwiek wskazała, że u homozygot z allelem AA wskaźniki masy ciała (BMI), obwody talii i bioder, masy tłuszczowej oraz masy komórkowej, były wyższe w porównaniu do pozostałych grup. Allel A

predysponował do większej zawartości wody zewnątrzkomórkowej w organizmie homozygot AA.

Opracowując wyniki Doktorantka w celu analizy zmienności ogólnej zbioru badanych zmiennych zastosowała analizę składowych głównych stosowaną w badaniach biologicznych do poszukiwania źródeł zmienności i wyjaśniania ich przyczyn. Uzyskane wyniki przedstawiła w dwóch tabelach i na 2 wykresach. Niestety nie wyjaśniła, co oznaczają kolejne składowe główne, których wyodrębniła 11 jak należy rozumieć co należy rozumieć pod pojęciem składowa główna, których podaje 11. Proszę o wyjaśnienie tej kwestii.

Opisując wyniki badań zależności pomiędzy polimorfizmem rs 9939609 w genie FTO a sposobem żywienia Pani Magister stwierdziła, że homozygotyczni nosiciele allele A istotnie statystycznie rzadziej spożywali kasze drobnoziarniste rafinowane, owoce tropikalne, inne niż kiwi i cytrusy oraz chude ryby i warzywa żółtopomarańczowe. Wykazała także tendencję u tych nosicieli do częstszego spożycia herbatników i ciastek, a rzadszego lodów, owoców jagodowych. Uzyskane wyniki nie pozwoliły na wyodrębnienie charakterystycznych grup produktów spożywanych przez nosicieli wariantu A. Doktorantka poszukując rozwiązania, przeprowadziła analizę korespondencji genotypów i częstotliwości spożycia wybranych grup produktów. Na podstawie tych badań wykazała, że występowanie genotypu AA korespondowało z mniejszą częstotliwością spożycia produktów o wysokiej wartości odżywczej. Ponadto stwierdziła, że respondenci z genotypem AT częściej spożywają owoce, warzywa, tłuste ryby, pełnoziarniste przetwory zbożowe, mleko i naturalne produkty mleczne w porównaniu do osób genotypem TT.

Autorka przeciwnie do wyników badań innych autorów (grupy badane w innych krajach) nie wykazała związku pomiędzy spożyciem poszczególnych składników odżywczych, a polimorfizmem genu FTO. Dlatego warto byłoby przeprowadzić w Polsce takie badania na większej grupie osób. Opisując swoje wyniki badań Pani Magister od razu odnosiła je do wyników badań innych autorów. Wykazała się znajomością piśmiennictwa i dostępnych wyników badań z obszaru objętego badaniem.

Główną część pracy kończy rozdział Podsumowanie, stwierdzenia i wnioski. Warte przytoczenia jest stwierdzenie Doktorantki, że „Polimorfizm rs9939609 w genie FTO zwiększa ryzyko pojawienia się nadwagi i otyłości, przy czym wyniki wskazują na obecność innych, istotnych przyczyn, które mają wpływ na wystąpienie

nadmiernej masy ciała”. Dalej Autorka zauważa, że badania w omawianym obszarze nadal są potrzebne, zwłaszcza w kontekście występowania epidemii otyłości.

Na podstawie przeprowadzonych badań Pani Magister Magdalena Sot-Szewczyk sformułowała 8 stwierdzeń/wniosków, w których w uporządkowany, skondensowany sposób podała główne rezultaty przeprowadzonych badań. Stwierdzenia zostały sformułowane prawidłowo, odpowiadają osiągniętym wynikom.

Doktorantka zastosowała szeroki wachlarz parametrów i testów oceny statystycznej, co pozwoliło Jej lepiej zinterpretować uzyskane wyniki badań.

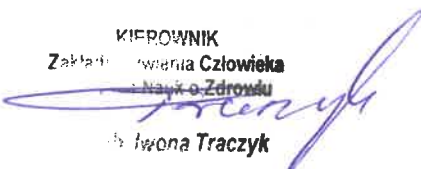
Analizując spis piśmiennictwa zauważyłam brak na liście niektórych cytowanych w pracy publikacji np. Angelantonio i wsp., 2016 lub nieoprawnie podane daty wydania (np. w pozycji 48 jest 2018, powinno być 2017.). Przed opublikowaniem poszczególnych części pracy należy dokonać korekt językowych/gramatycznych oraz interpunkcyjnych, które wkrały się do dysertacji.

PODSUMOWANIE

Przedstawiona mi do recenzji praca mgr Magdaleny Sot-Szewczyk **„Analiza polimorfizmu w genie FTO oraz jego związek ze sposobem żywienia i stanem odżywienia w wybranej grupie osób”** jest wartościową, oryginalną pracą badawczą. Warto podkreślić, że badania nad poszukiwaniem przyczyn otyłości mają duże znaczenie populacyjne. Doktorantka przeprowadziła badania genetyczne oraz szereg badań dodatkowych, aby sprostać wyzwaniu. Zrealizowała cel badania oraz zweryfikowała postawione hipotezy. Uwagi i sugestie zawarte w recenzji nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

Dysertacja pod względem redakcyjnym wymaga uważnej analizy.

Praca spełnia warunki określone w art. 13.1 ustawy z dnia 14 marca 2023 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U. 2023 Nr 65 poz. 595) oraz przepisach zmieniających ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 3 lipca 2018 roku (Dz.U. z 2018, poz. 1669). W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia SGGW wniosek o dopuszczenie mgr Magdaleny Sot-Szewczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Żywności Człowieka
i Nauk o Zdrowiu

Iwona Traczyk

