



**KUJAWSKO-POMORSKIE
CENTRUM NAUKOWO-TECHNOLOGICZNE**

im. prof. Jana Czochrańskiego sp. z o.o.

z siedzibą w Przysieku k/Torunia

Prezes: prof. zw. dr hab. Bogusław Buszewski, czł. rzecz. PAN & EASA, dr h.c. mult.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pani **lek. Marty DOBRZYŃSKIEJ**

pt: *„Zmiana parametrów metabolicznych w osoczu krwi pacjentów z kleszczowym zapaleniem mózgu oraz koinfekcji bakteriami.”*

wykonanej w Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

pod kierunkiem: prof. dr hab. n. farm. Elżbiety Skrzydlewskiej

i prof. dr hab. n. med. Anny Moniuszko-Malinowskiej

jako promotorów

Trudno nie zgodzić się z Doktorantką i pierwszym zdaniem ocenianej dysertacji, że *„XXI wiek charakteryzuje się nasilonymi zmianami klimatycznymi oraz destrukcyjną działalnością człowieka, która zakłóca całość ekosystemu, powodując rozprzestrzenianie się mikroorganizmów odzwierzęcych (w tym również wpływających na populację ludzką) w środowisku.”* Owady i pajęczaki są przenośnikami różnych wirusów i bakterii jak też pierwotniaków stanowiąc poważne zagrożenie epidemiologiczne i kliniczne. W konsekwencji obserwuje się znaczący wzrost zachorowań na choroby przenoszone przez te patogeny zewnętrzne np.: borelioza czy/i kleszczowe zapalenie mózgu i inne. Stąd wczesne rozpoznanie i prawidłowa diagnoza stanowią podstawę odpowiednio dedykowanej i skutecznej terapii. Tym bardziej, że skutkiem złej diagnozy czy nieprawidłowo przeprowadzonej terapii mogą być zmiany w składzie i strukturze związków na poziomie metabolomu z transferem do metabonomu (poziom -omiczny). Wprawdzie większość wirusów replikuje jedynie w tkankach obwodowych, to jednak niektóre z nich przystosowały się i mają zdolność do opracowania „unikatowej strategii” docierania do odśrodkowego układu nerwowego, gdzie powodują infekcje. Przykładem takim mogą być: enterowirusy, wirus świnki, flawiwirusy, wirus limfocytowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych czy herpeswirusy. O tym pisze Doktorantka, przedstawiając schemat dróg wnikania wirusów i innych patogenów, wspominając i wyjaśniając, w bardzo uproszczony sposób, mechanizm infekowania (*via* neurony, leukocyty), i dalej ich replikacji i metabolizmu (bariera mózg-krew) zgodnie z

konceptcją tzw. „konია trojańskiego”. Zagadnienia te oraz im podobne opisane są w dalszej części ocenianej rozprawy.

Jako cel nadrzędny, zarówno Doktorantka jak i Panie Promotorki, wyznaczyły sobie ważne i aktualne, a nie do końca wyjaśnione, zadanie. Chodzi o porównanie zmian metabolicznych w osoczu krwi oraz granulocytach/limfocytach pacjentów zakażonych wirusem kleszczowego zapalenia mózgu oraz pacjentów z koinfekcjami bakteryjnymi spowodowanymi przez szczepy *Borrelia burgdorferi* i *Anaplasma phagocytophilum*. Oczywiście jak w każdym tego typu badaniach konieczne było uwzględnienie różnych czynników, które w sposób znaczący miały wpływ na wynik końcowy. Dla przykładu, Doktorantka w swoich rozważaniach uwzględniła: równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjne, czy zaburzenia redoks oceniane poprzez zmianę aktywności enzymów czy ekspresję receptorów związanych z białkiem G w wyniku działania endokannabinoidów i eikozanoidów. Zwróciła też uwagę na skuteczność terapeutyczną zakażonych pacjentów wirusem kleszczowego zapalenia mózgu i ocenę zmian metabolicznych w różnych fazach choroby i terapii.

Część teoretyczną rozprawy stanowi opis zmian metabolicznych w ośrodkowym układzie nerwowym z uwzględnieniem wpływu reaktywnych form tlenu na równowagi redoks i efekty antyoksydacyjne. Szkoda, że nie pokusiła się Pani o przytoczenie choćby jednego przykładowego schematu opisywanych procesów!. Dla chemika równowaga i reakcja to równowaga i reakcja. Są substraty i są produkty. A tak...? Dalej Doktorantka przedstawiła i scharakteryzowała flawiwirusy, które bez względu na zmiany klimatyczne rozpowszechnione są już na całym świecie. Nie jest to kompendium odkrywczе ale nakreśla czytelnikowi problem, a na serii schematów pokazuje do jakich zmian metabolicznych może dość podczas zakażenia takimi wirusem jak np.: Zachodniego Nilu czy dengi lub wirusem Zika bądź japońskiego zapalenia mózgu uwzględniając w tym kleszczowe zapalenie mózgu. Szkoda, że w sposób zbiorczy, jako pracę przeglądową, do tego może w formie tabelarycznej, nie przedstawiła Pani cech wspólnych i różnic występujących u omawianych patogenów i konsekwencji wynikających z infekcji. Wg. mnie takie porównanie i podsumowanie stanowiłoby świetne i cenne uzupełnienie tzw. „nowości naukowej”, z którą w ocenianej dysertacji mamy do czynienia. No właśnie, aż prosi się przygotowanie pracy przeglądowej by lepiej i bardziej merytorycznie opisać i przedyskutować to zagadnienie.

Rozprawę stanowi opracowanie w formie monografii, które powstało w oparciu o wyniki badań opisanych i opublikowanych w dwóch spośród czterech prac naukowych, których sumaryczny IF wynosi 13. Odpowiada to 200 punktom ministerialnym. Prace te, przed opublikowaniem w specjalistycznych czasopismach, były już ocenione przez niezależnych recenzentów. Zatem ja odniosę się do ich



2

krytycznej weryfikacji pod kątem kompleksowego ich zestawienia. Całość jak kłamrą spina *Streszczenie* w języku polskim i angielskim oraz cytowane *Piśmiennictwo*, niestety bez numeracji. Nie wnoszę zastrzeżeń do cytowanych prac. Są stosunkowo „młode” i merytorycznie odpowiadają wymogom przeglądu literaturowego. Uzupełnieniem opracowania są oświadczenia Komisji Bioetycznej wyrażającej zgodę na prowadzenie badań. Brak niestety oświadczeń autorskich wskazujących na faktyczny udział Doktorantki w realizowanych Badaniach. Za bardzo użyteczny należy uznać wykaz skrótów i akronimów.

W tym miejscu należy zauważyć, że w części eksperymentalnej, zatytułowanej **Materiały i Metody** Doktorantka starała się opisać metodyki i warunki przeprowadzonych operacji jednostkowych, zastosowane techniki pomiarowe oraz wykaz materiałów i odczynników zastosowanych w badaniach. Stosunkowo dokładnie opisała metodyki związane z pomiarami i wyznaczeniem parametrów prooksydacyjnych i antyoksydacyjnych. Opisała też ocenę metabolizmu fosfolipidów czy ekspresję białek jak też związaną z tym aktywność biologiczną/enzymatyczną. Zgodnie z wymogami Doktorantka wymieniła typy zastosowanych w badaniach przyrządów oraz użyte oprogramowanie. Wymieniła też wykorzystywane specjalistyczne programy i pakiety niezbędne do analizy statystycznej. Nie mam zastrzeżeń do tej części, choć posługuje się Pani językiem żargonowym i parę takich „lapsusów” jak *rozdział* gdy powinno być *rozdzielanie*, *interakcja* gdy powinno być *oddziaływanie*, lub *poziom prozapalnego LTB4 był kilkakrotnie podwyższony*, lub *uległ istotnemu obniżeniu*. Poruszamy się w obrębie chemii analitycznej więc *to ile?* Brakuje mi też informacji, w przypadku badań spektrofotometrycznych, jaka była długość drogi optycznej? Podsumowując, ze względu na układ opracowanie podoba mi się i nie wnoszę większych zastrzeżeń.

Kolejny rozdział poświęcony został uzyskanym wynikom i ich omówieniu. Za najważniejsze dokonania Doktorantki należy uznać:

1. Dokonanie selekcji i zaproponowanie wybranych parametrów prooksydacyjnych zakażenia wirusem kleszczowego zapalenia mózgu oraz koinfekcji sprzyjających powstawaniu stresu oksydacyjnego wywołanego zmianami w aktywności prooksydacyjnej oraz antyoksydacyjnej, co skutkuje nasiloną peroksydacją lipidów i oksydacyjnymi modyfikacjami białek jak też przesunięciem równowagi redoks w kierunku prooksydacyjnym.
2. Wykazanie, poprzez porównanie parametrów prooksydacyjnych, że klasyczne leczenie zarówno wirusa kleszczowego zapalenia mózgu oraz koinfekcji jedynie w nieznacznym stopniu powoduje naruszenie równowagi redoks w porównaniu do stanu początkowego choroby. Zapewne wpływ na to mogą mieć zaburzenia metaboliczne oraz stan zapalny badanego organizmu.



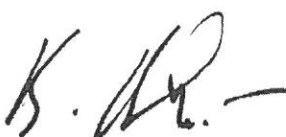
3. Wykazanie, że stres oksydacyjny wywołany zakażeniem wirusem kleszczowego zapalenia mózgu oraz koinfekcjami sprzyja podwyższeniem aktywności enzymów lipolitycznych, czego konsekwencją jest nasilony metabolizm fosfolipidów, a zwłaszcza generacji metabolitów wolnych wielonasyconych kwasów tłuszczowych, które oddziałują poprzez receptory związane z białkiem G. Ma to wpływ na proces farmakoterapii i stan zdrowia pacjenta.
4. Wykazanie, że w farmakoterapii skuteczne w przypadku zakażenia kleszczowym zapaleniem mózgu mogą być preparaty o charakterze antyoksydacyjnym zwłaszcza o charakterze lipofilowym, które miałyby istotne znaczenie dla skuteczności i efektywności bariery mózg-krew.

W tym miejscu należy stwierdzić, że w znaczącym stopniu założone cele i zamierzenia wyznaczone przez Panię Promotorki i Doktorantkę *zostały osiągnięte*. W związku z tym mam kilka pytań i uwag dotyczących uzyskanych wyników i danych eksperymentalnych:

1. Praca zawiera elementy badań chromatograficznych i spektralnych, niestety nie zamieściła Pani ani jednego chromatogramu czy widma MS. Nie pokazała też Pani ani jednej krzywej kalibracyjnej, a ma to istotne znaczenie w przypadku opisu błony biologicznej a zwłaszcza bariery krew-mózg. Myślę tu o braku wykorzystania ilościowej zależności retencja-struktura (QSRR). Proszę o komentarz w tym względzie.
2. Jakie ma Pani dowody na to, że metabolizm fosfolipidów i wielonasyconych kwasów tłuszczowych w wyniku działania terapeutycznego prowadzi do tzw. pełnego „stanu fizjologicznego”. Co to znaczy i jaki jest mechanizm tego procesu?
3. Szkoda, że w opracowaniu nigdzie nie ma choćby trochę chemii. Myślę tu o interpretacji mechanizmów z uwzględnieniem szlaków metabolicznych np. dla lipidów, zwłaszcza w kontekście interpretacji uzyskanych wyników. Jakie były założenia przy omawianiu wpływu stresu oksydacyjnego? Aż się prosi o takie wyjaśnienie. Proszę o komentarz.

Reasumując, powyższe uwagi mają wprawdzie charakter dyskusyjny, ale nieco obniżają moją pozytywną, merytoryczną ocenę pracy. Spodziewam się, że uzyskam na nie odpowiedź podczas publicznej obrony. Jednocześnie uważam, że w świetle obowiązującego prawa (Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*, a w szczególności artykuły i przepisy; *O stopniach naukowych i tytule naukowym wraz z uzupełnieniami*) przedstawiona rozprawa spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i **wnoszę** do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o **dopuszczenie** Pani **lek. Marty Dobrzyńskiej** do dalszych etapów postępowania celem uzyskania stopnia **doktora nauk medycznych**, w dziedzinie **nauk medycznych i nauk o zdrowiu**.

Stary Toruń/Toruń, 18 grudzień 2023 r


prof. dr hab. Boenstlaw Ruszczyński