

Białystok, 10.01.2022 r.

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej lek. dent. Katarzyny Morawskiej pod tytułem
„Analiza wybranych parametrów stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego w ślinie i krwi
pacjentów z autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy” wykonanej pod opieką
Prof. dr hab. n. med. Anny Zalewskiej i opracowana na zlecenie
Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

Podstawą formalną recenzji jest pismo Dziekan Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Pani Prof. dr hab. Iriny Kowalskiej z dnia 25.11.2021 roku.

1. Ogólna charakterystyka pracy

Choroba Hashimoto uznawana jest za przewlekłe limfocytarne zapalenie tarczycy. Dotyka ok. 2% populacji i występuje 5-10 razy częściej u kobiet niż u mężczyzn. Nieleczona, w dłuższej perspektywie może prowadzić do rozwoju raka tarczycy. Zaliczana jest do chorób autoimmunologicznych i charakteryzuje się naciekiem zapalnym miększu gruczołu tarczowego. Limfocyty T i B stymulowane przeciwko tyreoglobulinie i peroksydazie tarczycy indukują szereg procesów biochemicznych, które prowadzą do postępującego niszczenia tarczycy tj. powodują jej zwłóknienie, zmniejszenie wielkości i w konsekwencji niedoczynność. Dostępne wyniki dotychczasowych badań naukowych wskazują, że choroba ta wiąże się z obniżonym komórkowym potencjałem antyoksydacyjnym, zwiększonym stresem oksydacyjnym oraz licznymi powikłaniami ogólnoustrojowymi, w tym zaburzeniami funkcji gruczołów ślinowych. Z analizy danych literaturowych wynika, że nie wyjaśniono do tej pory przyczyny dysfunkcji gruczołów ślinowych u chorych na autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy (AITD). Nie prowadzono również badań z zakresu oceny parametrów obrony antyoksydacyjnej oraz biomarkerów stresu oksydacyjnego w ślinie pacjentów.



Wybór problematyki rozprawy doktorskiej należy więc uznać za trafny z naukowego i utylitarnego punktu widzenia.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska oparta jest na cyklu monotematycznych dwóch publikacji naukowych dotyczących parametrów obrony antyoksydacyjnej, mierzalnych skutków stresu oksydacyjnego i parametrów stanu zapalnego w ślinie oraz we krwi pacjentek z chorobą Hashimoto w porównaniu z osobami ogólnie zdrowymi, a także ocena stopnia występowania zaburzeń funkcjonowania gruczołów ślinowych. Rozprawa doktorska liczy 80 stron i składa się z: wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską, podsumowania dorobku naukowego, wykazu stosowanych skrótów i oznaczeń, wstępu, omówienia prac składających się na rozprawę doktorską, streszczenia w języku polskim i angielskim, publikacji stanowiących rozprawę doktorską, 101 pozycji piśmiennictwa (w zdecydowanie przeważającej mierze anglojęzycznych) wymienionych według kolejności cytowania w tekście wstępu, informacji o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu każdego z nich w przygotowanie pracy i oświadczenie o zgodzie na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej lek. dent. Katarzyny Morawskiej oraz zgody komisji bioetycznej.

Obie publikacje przedstawione do oceny ukazały się w wysoko punktowanych recenzowanych czasopismach. Pierwszą pracę opublikowano w: *Journal of Clinical Medicine* (IF=4,241, punktacja wg listy MNiE=140 pkt., 2020 r.), a drugą w *Mediators and Inflammation* (IF=4,711, punktacja wg listy MNiE=100 pkt., 2021 r.). Obie publikacje są pracami oryginalnymi. Sumaryczny IF cyklu prac wynosi IF=8,952, a łączna liczba punktów wg listy MNiE wynosi 240 pkt. W obu pracach Autorka była pierwszym autorem. Nie jest autorem korespondencyjnym w żadnej pracy. Procentowy wkład Doktorantki w przygotowanie wyżej wymienionych publikacji wynosi odpowiednio 70% i 67%, co zostało potwierdzone za pomocą podpisanych przez wszystkich współautorów oświadczeń z podaniem dokładnego charakteru udziału. Układ rozprawy, jak i zakres dobranej literatury, pozwalają wnosić o właściwym usystematyzowaniu podjętych prac i dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki do podjęcia tematyki badawczej. Proporcje objętościowe poszczególnych części dysertacji należy uznać za prawidłowe.

Przedstawiony dorobek naukowy Doktorantki, oprócz opisanych powyżej prac obejmuje ponadto 1 publikację naukową nie włączoną do rozprawy doktorskiej, której IF=3,303, a liczba punktów wg listy MNiE wynosi 140 pkt. Dodatkowo, lek. dent. Katarzyna Morawska jest współautorem 1 polskiego streszczenia zjazdowego oraz współautorem skryptu „Endodoncja krok po kroku”.

2. Ocena części literaturowej

We wstępie pracy Autorka charakteryzuje autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy i przedstawia towarzyszące jej negatywne skutki, do których zalicza niedoczynność związaną ze zniszczeniem lub włóknistym zwyrodnieniem tkanki gruczołowej oraz zwraca uwagę na częste przypadki pacjentów w stanie eutyreozy, jak i w stanie nadczynności tarczycy. Następnie opisuje metody diagnostyki choroby Hashimoto. Z uwagi na jeden z możliwych mechanizmów patofizjologicznych przebiegu tej choroby, który związany jest z reaktywnymi formami tlenu (RFT) i stresu oksydacyjnego, Doktorantka charakteryzuje wolne rodniki tlenowe i azotowe. Wymienione rodniki odgrywają rolę w procesie prawidłowego funkcjonowania komórek, ale także prowadzą do powstania produktów utleniania związków biologicznych. Autorka pracy podkreśla, że zachwianie równowagi pomiędzy aktywnością/stężeniem systemów antyoksydacyjnych a stężeniem RFT i przesunięcie jej w kierunku reakcji utleniania prowadzi do stresu oksydacyjnego. Dalej uwagę skupia na peroksydacji lipidów, która w rezultacie hamuje aktywność enzymów błonowych i białek transportujących oraz rozpręża fosforylację oksydacyjną w mitochondriach. W rezultacie, dochodzi do zaburzenia budowy receptorów błonowych oraz powinowactwa receptorów i determinant antygenowych, co skutkuje uwolnieniem enzymów lizosomalnych i śmiercią komórki.

Oceniając wstęp na podstawie przeglądu piśmiennictwa uważam, że jego zakres jest logiczny i uzasadniany podjętą tematyką badawczą. Przedstawiona analiza literaturowa dowodzi dobrego przygotowania teoretycznego Doktorantki do zrealizowania założonych prac badawczych i posłużyła Autorce do sformułowania celów oraz zakresu badawczego zrealizowanych prac oryginalnych.

3. Ocena merytorycznej części rozprawy

W tej części dysertacji, Doktorantka w sposób skrótowy przedstawia krótkie wprowadzenie teoretyczne do omawianych prac, określa cele realizowane w każdej z nich, a także charakteryzuje materiały i metody badań, przedstawia krótką dyskusję uzyskanych wyników badań oraz podsumowuje pracę i formułuje wnioski. Pierwsza publikacja zatytułowana jest: „Enhanced Salivary and General Oxidative Stress in Hashimoto's Thyroiditis Women in Euthyrosis” (opublikowana w *Journal of Clinical Medicine*). Zamieszczona w pracy doktorskiej pozycja (s. 27-42) nie zawiera danych bibliometrycznych, tj. gdzie i kiedy została opublikowana, a jej treść odbiega od treści oryginalnie opublikowanego artykułu. Różnice występują w sposobie opisu metodyki badań, zestawieniu danych np. Tabela 1, numeracji i tytułów podpunktów. Należy jednak zaznaczyć, że biorąc pod uwagę aspekt

merytoryczny obu prac, tj. wyniki badań i ich dyskusję, nie zanotowano różnic pomiędzy obiema pozycjami. Pozostaje jednak zadać pytanie, dlaczego Doktorantka przedstawiła tę pracę w dwóch wersjach?

Druga publikacja wchodząca w skład rozprawy doktorskiej nosi tytuł: "Cytokine/Chemokine/Growth Factor Profiles Contribute to Understanding the Pathogenesis of the Salivary Gland Dysfunction in Euthyroid Hashimoto's Thyroiditis Patients" (opublikowana w *Mediators and Inflammation*). W obu pracach oryginalnych Autorka zaznacza, że przed przystąpieniem do badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

W obu publikacjach badaniom poddano ślinę niestymulowaną i stymulowaną oraz krew pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą Hashimoto. Należy tutaj podkreślić innowacyjną wartość naukową pracy polegającą na zastosowaniu śliny jako materiału diagnostycznego. Wiązą się z tym liczne korzyści, bowiem jest to łatwo dostępny płyn biologiczny, pobierany w sposób nieinwazyjny z zastosowaniem ogólnie przyjętych norm, bez konieczności angażowania wyspecjalizowanego personelu medycznego, jak to ma miejsce w przypadku pozyskiwania krwi. Celem pierwszej pracy była ocena parametrów obrony antyoksydacyjnej, mierzalnych skutków stresu oksydacyjnego w ślinie niestymulowanej i stymulowanej oraz w osoczu/erytrocytach pacjentów. Zakres badań obejmował, dla wyselekcjonowanych odpowiednio próbek biologicznych śliny i krwi, pomiar aktywności enzymów antyoksydacyjnych, markerów oksydacyjnej modyfikacji białek oraz lipidów, a także całkowitego potencjału antyoksydacyjnego. Wyniki pozyskane od 45 pacjentek z chorobą Hashimoto oraz 45 pacjentek stanowiących próbę kontrolną, zestawiono w postaci dobrze opracowanych tabel i wykresów. Z przeprowadzonych badań wynika, że u pacjentów z AITD zaobserwowano istotnie niższe wydzielanie śliny niestymulowanej, a wartość całkowitego potencjału antyoksydacyjnego była znacząco niższa w porównaniu do grupy kontrolnej. Analiza wyników wykazuje dodatkowo, że całkowity status oksydacyjny i poziom produktów utleniania białek i lipidów były znacznie wyższe w ślinie niestymulowanej i stymulowanej i osoczu pacjentów z AITD w porównaniu do zdrowych pacjentów. Utylitarnym wnioskiem zrealizowanej pracy wg recenzenta jest wskazanie, że funkcja wydzielnicza ślinianek podżuchwowych u pacjentek z AITD w stanie eutyreozy jest obniżona, co objawia się zmniejszeniem wydzielania śliny niestymulowanej. Na uwagę zasługuje także fakt, że Doktorantka obok obszernej dyskusji wyników badań, wskazuje dalsze kierunki badań, co świadczy o szerokiej świadomości naukowej w zakresie realizowanej tematyki.



Celem drugiej pracy była ocena dysfunkcji gruczołów ślinowych oraz ocena zależności pomiędzy poziomem wybranych cytokin, chemokin i czynników wzrostowych w niestymulowanej ślinie, tempo wydzielania śliny tego typu, a także rozpoznanie objawów kserostomii u chorych na AITD. W tym przypadku, do badań zakwalifikowano 25 pacjentów z AITD. Grupę kontrolną stanowiło 25 ogólnie zdrowych osób. Uzyskane wyniki badań wskazują na osłabioną funkcję wydzielniczą ślinianek, a dodatkowo niewydolność gruczołów ślinowych pogłębia się z czasem trwania choroby. Zidentyfikowano również wskaźniki, które mogą być potencjalnymi biomarkerami dysfunkcji gruczołów ślinowych w przebiegu AITD.

Analiza uzyskanych wyników badań i przeprowadzonych obserwacji rodzi pytanie, czy zaproponowana metoda oznaczania biomarkerów ze śliny u pacjentów z AITD może być wykorzystana w praktyce klinicznej? Czy Doktorantka dokonała wstępnego oszacowania kosztów takiego badania i czy byłoby ono konkurencyjne cenowo do obecnie stosowanych metod?

Pewnym mankamentem rozprawy doktorskiej jest brak zdefiniowanego celu ogólnego pracy i zakresu badań przewidzianych do realizacji. Cele szczegółowe są dokładnie określone w opublikowanych pracach. Trudno wskazywać na niedociągnięcia w przedstawionych do oceny pracach, opublikowanych w wysoko punktowanych czasopismach. Jednak recenzent pozwoli sobie na drobne uwagi do pierwszego artykułu dotyczące sposobu zapisu jonów i związku w pkt. 2.8.3. Zazwyczaj wartość ładunków w jonach podaje się w indeksie górnym, a współczynniki we wzorach chemicznych wstawia się w indeksie dolnym. Proszę również o wyjaśnienie, co stanowiło podstawę do zastosowania dodatkowo testu Schrimera i jakie wnioski można zdefiniować po przeprowadzonych badaniach w tym zakresie. W nawiązaniu do drugiego artykułu, proszę o bardziej szczegółowe wyjaśnienie prowadzenia badań dla próbek pobieranych w drugiej fazie cyklu menstruacyjnego, jakie to miało znaczenie z naukowo-badawczego punktu widzenia?

Strona redakcyjna pracy nie budzi większych zastrzeżeń. W pracy natknąć się można na drobne błędy językowe, stylistyczne i interpunkcyjne. Liczba tego typu potknięć jest niewielka i nie wpływa na ocenę pracy. Graficzna strona wykresów w publikacjach została opracowana z wymagającą podkreślenia starannością edytorską. Na pochwałę zasługuje przeprowadzenie kompleksowej obróbki statystycznej otrzymanych wyników badań w obu pracach. W streszczeniu rozprawy doktorskiej zamieszczono podsumowanie wraz z wnioskami. Doktorantka słusznie zauważa, że osiągnięto założone cele naukowe. Wnioski są adekwatne do otrzymanych wyników i są cenne zarówno pod względem poznawczym, jak i

użytecznym. Część z nich może stanowić bezpośrednią wytyczną nadającą się do zainicjowania dalszych badań naukowych.

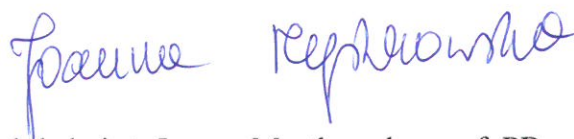
4. Podsumowanie

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska lek. dent. Katarzyny Morawskiej pod tytułem „Analiza wybranych parametrów stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego w ślinie i krwi pacjentów z autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy” jest dobrze zaplanowana, udokumentowana licznymi badaniami biochemicznymi i posiada aspekt praktyczny. Na podstawie analizy rozprawy doktorskiej stwierdzam, że zawiera ona wartościowe wyniki poznawcze wnoszące istotny wkład w rozwój nauk medycznych. Ocenianą pracę cechuje oryginalna tematyka i zastosowanie autorskiego programu badawczego wykorzystującego interdyscyplinarne metody badawcze.

Doktorantka w opiniowanej rozprawie wykazała się dobrą orientacją w literaturze dotyczącej tematyki będącej przedmiotem Jej zainteresowania, którą wykorzystwała w przeglądzie literatury i dyskusji. Autorka pracy doskonale opanowała warsztat naukowy, opracowała precyzyjną metodykę badawczą i przyjęła wystarczająco szeroki, spójny zakres zagadnień rozpatrywanych w rozprawie. W rozprawie dowiodła umiejętności samodzielnego rozwiązania problemu naukowego, uzyskała wartościowe i oryginalne wyniki badań o istotnym znaczeniu poznawczym i o walorach aplikacyjnych oraz opanowała umiejętności opracowania i prezentowania osiągniętych rezultatów badawczych.

Przedstawione w recenzji uwagi mają głównie charakter dyskusyjny i nie umniejszają w najmniejszym stopniu osiągnięć naukowych Doktorantki.

W związku z powyższym stwierdzam, że opiniowana praca doktorska spełnia wszelkie wymagania określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz art. 179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) i przedkładam wniosek do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. dent. Katarzyny Morawskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. inż. Joanna Mystkowska, prof. PB