



**KUJAWSKO-POMORSKIE
CENTRUM NAUKOWO-TECHNOLOGICZNE
im. prof. Jana Czochrańskiego
ul. Krasińskiego 4, 87 100 TORUŃ**

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



RPW/5352/2023
Data: 2023-07-10
UMB

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pani **lek. Moniki GROTH**

pt: „*Ocena równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w wybranych chorobach
przenoszonych przez kleszcze*”

wykonanej w Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji

Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania

w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

pod kierunkiem: prof. dr hab. n. med. Anny Moniuszko-Malinowskiej

jako promotora

Wśród wielu zagrożeń na jakie narażony jest człowiek, różnego rodzaju choroby przenoszone przez zwierzęta, w tym przez owady a zwłaszcza pajęczaki, stanowią jedną z dominujących jednostek. Tak jak zauważyła Autorka ocenianej dysertacji, pajęczaki są przenośnikami różnych wirusów i patogenów jak też pierwotniaków stanowiąc poważne zagrożenie epidemiologiczne i kliniczne dla człowieka. W konsekwencji obserwuje się znaczący wzrost zachorowań na choroby przenoszone przez kleszcze tj.: borelioza, kleszczowe zapalenie mózgu czy ludzka anaplazmoza granulocytarna. Stąd wczesne rozpoznanie i prawidłowa diagnoza stanowią podstawę odpowiednio dedykowanej i skutecznej terapii. Tym bardziej, że nieprawidłowe rozpoznanie może skutkować powikłaniami, które powodować mogą zmiany w składzie i strukturze związków na poziomie metabolomu z transferem do metabonomu. Fakt ten wykorzystuje się dla celów diagnostycznych poszukując markerów wczesnej informacji przebiegu choroby na poziomie *omicznym*. Przykładem takim może być sfingomielinina będącą sfingolipidem stanowiącym indykację flawiwirusa. Ten sfingolipid pełni różne, ważne funkcje życiowe. Odpowiedzialny jest bowiem za zamiany płynności, kształtu i/czy przepuszczalności błony komórkowej (bariera biologiczna) co skutkować może infekcją, replikacją czy wręcz przeżyciem wirusów czy innych patogenów.

Zagadnieniom tym poświęcona jest niniejsza rozprawa, przy czym jej celem nadrzędnym było jednoznaczne, praktyczne ukierunkowanie na diagnostykę kliniczną z wykorzystaniem sprzężonych technik instrumentalno-analitycznych i chemometrycznych. Jest to bez wątpienia nowoczesne podejście we współczesnej

diagnostyce klinicznej, gdzie dla potrzeb terapii rutynowej wykorzystuje się obserwacje i interpretację mechanizmów przebiegających na poziomie molekularnym. W tym też doszukać się można oryginalnej koncepcji i konsekwentnej realizacji zamierzonych celów stanowiących tzw. „nowość naukową”.

Przedstawiona do recenzji dysertacja stanowi opracowanie składające się z dwóch publikacji - przeglądowej opublikowanej we *Frontiers, Cellular and Infection Microbiology* (IF = 6.073) oraz eksperymentalnej opublikowanej w *Scientific Reports* (IF = 4.996). To dobre, specjalistyczne czasopisma. Pytanie czy dwie prace to wystarczające osiągnięcie czy mało? Wątpliwość tą częściowo rozwiewa lektura autoreferatu. Ma on układ klasyczny i składa się on ze *Wstępu*, wprowadzającego czytelnika w treści związane z chorobami przenoszonymi przez pajęczaki. Doktorantka, wprawdzie krótko ale w zwartej formie, dokonała omówienia i charakterystyki skutków infekcji spowodowanej przez kleszcze. Dalej, w bardzo ogólnej, może zbyt ogólnej, formie przedstawiła cel swoich badań jako *Cel pracy*. Uzupełnieniem tego jest rozdział poświęcony stosowanym *Materiałom i metodom* stosowanym w badaniach. To dość wyczerpująco opisana część, w której Autorka zgodnie z wytycznymi Komisji Bioetycznej, przedstawiła założenia przeprowadzanych eksperymentów. W założeniach tych uwzględniła również ważną dla analizy statystycznej informację o liczbie, podziale pacjentów, od których pobierano próbki do analizy. W tym miejscu można polemizować czy populacja danych użytych do badań, ze statystycznego punktu widzenia, to dużo czy mało? Zostawiam to jako kwestię otwartą, do dyskusji.

Kolejne rozdziały poświęcone zostały ważnym z eksperymentalnego punktu widzenia, zagadnieniom oznaczania kwasów tłuszczowych (GC-FID i GC-MS), profilowania frakcji lipidowej po wcześniejszej ich ekstrakcji oraz finalnym oznaczaniu za pomocą LC-MS/MS). Tu muszę zauważyć, że informacje zawarte tu są wystarczające aby zorientować się, że Doktorantka dość swobodnie radziła sobie z tymi wcale nie łatwymi zagadnieniami. Tym bardziej, że nie jest Ona specjalistą chemikiem-analitikiem. Dalej, przedstawiła uzyskane wyniki wraz z ich omówieniem oraz wnioskami. Szczegółowe omówienie wyników wraz z analizą statystyczną czytelnik znajdzie w publikacji *Scientific Reports*. Całość jak klamrą spina *Streszczenie* w języku polskim i angielskim oraz cytowane *Piśmiennictwo* (49 pozycji). Uzupełnieniem opracowania są oświadczenia autorskie oraz użyteczny wykaz skrótów i akronimów. Ze względu na układ opracowanie podoba mi się. Tekst napisany jest jasnym i poprawnym językiem i czyta się go bardzo dobrze. Oczywiście, jak w każdej recenzowanej pracy doszukać się można różnych uchybień i niejasności. Zadaniem recenzenta jest wyłowić je, poddać krytycznej ocenie i dyskusji. Wywiązując się z tego obowiązku stwierdzam, iż w tekście znalazłem parę

„lapsusów” nomenklaturowych i posługiwanie się językiem żargonowym. Przykładowo nie ma w analityce pojęcia *rozdział* a *rozdzielanie*, nie ma *iniektora* a *dozownik*, nie ma *iniekcji* a *wprowadzanie próbek*. Podobnie powierzchnia *piku* gdy winno być powierzchnia *sygnału*, czy *wykrywanie pików* tylko *identyfikacja sygnałów*, ect. Takich „perełek” jest wiele.

Za najważniejsze dokonania Doktorantki należy uznać:

1. Zaproponowanie oryginalnej idei i przeprowadzenie badań pilotażowych wykorzystania profili lipidowych (ceramidy) w śledzeniu infekcji patogenami przenoszonymi przez kleszcze.
2. Wykorzystanie łączonych technik instrumentalno-analitycznych (HPLC, wysokorozdzielczą MS, GC-FID, GC-MS, TLC, metody przygotowania próbek) oraz chemometrii w izolowaniu i oznaczaniu analitów zlokalizowanych w złożonych klinicznych matrycach biologicznych.
3. Zaproponowanie, w oparciu o przemiany metabolomiczne, istotnych składników tej przemiany (kwas linolinyowy i arachidowy) jako markerów przebiegu chorób przenoszonych przez kleszcze.
4. Wykazanie, że zróżnicowanie poziomu fosfatydyloetanolaminy i sfingomieliny w osoczu chorych na kleszczowe zapalenie mózgu i koinfekcję bakteryjną może być wykorzystanie w diagnostyce, a w konsekwencji skuteczniejszej i efektywniejszej farmakoterapii.

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

1. Jakie były kryteria wyboru warunków oznaczania ceramidów zarówno metodą UHPLC w modusie RP i HILIC jak i wysokorozdzielczą MS/MS?
2. W jaki sposób dokonywała Pani identyfikacji sygnałów i interpretacji widm MS dla oznaczanych indywidualów.
3. Szkoda, że w opracowaniu nigdzie nie ma choćby trochę chemii. Myślę tu o interpretacji mechanizmów z uwzględnieniem szlaków metabolomicznych np. dla lipidów, zwłaszcza w kontekście interpretacji zamieszczonej na str. 24. Jakie są założenia bazy danych KEGG? . Podobnie jest przy omawianiu wpływu stresu oksydacyjnego aż się prosi o takie wyjaśnienie. Proszę o komentarz.

Reasumując, powyższe uwagi mają wprawdzie charakter dyskusyjny i 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 tytułach naukowych wraz z uzupełnieniami*) przedstawiona rozprawa spełnia wymogi stawiane

rozprawom doktorskim i **wnoszę** do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o **dopuszczenie** Pani lek. **Moniki GROTH** do dalszych etapów postępowania celem uzyskania stopnia **doktora nauk** w dyscyplinie **nauk medycznych**, w dziedzinie **nauk medycznych i nauk o zdrowiu**.

Stary Toruń / Toruń, 8 czerwca 2023 r



prof. zw. dr hab. Bogusław Buszewski, dr h.c. mult.