

Recenzja
rozprawy na stopień doktora
lek. Edyty Heropolitańskiej-Pliszka
"Wybrane parametry biochemiczne
w najczęstszych zespołach przebiegających z zaburzeniami naprawy DNA"

Problem zaburzeń równowagi oksydoredukcyjnej organizmu był przedmiotem licznych badań w różnych jednostkach chorobowych i stanach klinicznych, z wykorzystaniem wielu metod badawczych i markerów stresu oksydacyjnego węglowodanów, białek, lipidów, kwasów nukleinowych oraz enzymatycznych i nieenzymatycznych mechanizmów przeciwutleniających. W przypadku pierwotnych niedoborów odporności z grupy zaburzeń naprawy DNA, powyższe zagadnienie stanowi natomiast przedmiot jedynie nielicznych badań. Dane literaturowe dotyczące patomechanizmu zmian oraz objawów klinicznych występujących w zespole ataksja-teleangiektazja (AT) oraz zespole Nijmegen (NBS) sugerują, że stres oksydacyjny może być ich istotnym elementem.

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska przygotowana została jako monografia z 136 stronami maszynopisu. Obejmuje 440 pozycji piśmienniczych oraz 10 tabel i 36 rycin. Całość pracy podzielona jest na 12 części. Pracę rozpoczyna spis treści, po którym następuje wykaz stosowanych skrótów. Kolejne rozdziały obejmują: wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, wnioski, dyskusję, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel, spis rycin oraz piśmiennictwo. Konstrukcja pracy odpowiada zwyczajowo przyjętym w tym zakresie ustaleniom.

Temat rozprawy doktorskiej "Wybrane parametry biochemiczne w najczęstszych zespołach przebiegających z zaburzeniami naprawy DNA" odpowiada zawartej w pracy treści. Jednostki chorobowe z grupy pierwotnych niedoborów odporności, jakimi są AT i NBS, charakteryzują się nadwrażliwością na promieniowanie jonizujące, zwiększonym ryzykiem wystąpienia chorób nowotworowych, progresywnymi zmianami w centralnym układzie nerwowym oraz zwiększoną podatnością na złamania podwójnej nici DNA. W świetle dotychczasowych, jak wspomniano już wcześniej nielicznych badań, stresowi oksydacyjnemu można przypisać istotne znaczenie w patogenezie wspomnianych zespołów. Stąd kompleksowa ocena równowagi oksydoredukcyjnej wydaje się mieć istotne znaczenie, a podjęcie wybranego tematu badawczego jest wysoce uzasadnione.

We wstępie Doktorantka w interesujący sposób opisuje zagadnienia związane z tematem badawczym. Odnosi się zarówno do szeroko rozumianego pojęcia stresu oksydacyjnego, jak i jednostek chorobowych będących przedmiotem badań, następnie starannie analizuje i opisuje ich związek. Na stronie 43 przedstawione zostały cele pracy. Nie ulega najmniejszej wątpliwości, że planowane zagadnienie badawcze jest niezwykle ważne, a konstrukcja pytań badawczych pozwala oczekiwać uzyskania poznawczych i praktycznych wniosków. Przedmiotem dyskusji może być natomiast ich sformułowanie; można by rozważyć unikania wprowadzania w celach pracy nazw poszczególnych markerów równowagi oksydoredukcyjnej (postrzegając je jako element metod), których oznaczenie ma umożliwić potwierdzenie spodziewanych i ocenianych zjawisk/zależności.

W rozdziale *Material i metody* przedstawiono badane grupy pacjentów z AT i NBS, odnosząc się zarówno do postawionego rozpoznania (objawy kliniczne, badania dodatkowe oraz stosowne badania immunologiczne i molekularne), jak i charakterystyki ich stanu klinicznego, oraz grupy kontrolne. Następnie opisano stosowane metody badawcze i statystyczne. W odniesieniu do opisu wyników, w przypadku braku rozkładu normalnego warto by rozważyć uzupełnić ich opisu o rozstęp międzykwartyłowy (co *de facto* znalazło odzwierciedlenie na przedstawionych rycinach). Niewątpliwą zaletą powyższej pracy jest duża liczebność badanych pacjentów z AT i NBS, w porównaniu do wcześniej opublikowanych prac.

Wyniki przedstawione zostały bardzo obszernie. Doktorantka posłużyła się do ich zobrazowania 7 tabelami i 34 rycinami. Uzyskane dane zostały opatrzone komentarzem. Bez wątpienia, wyniki badań przemawiające za występowaniem przewlekłego stresu oksydacyjnego u dzieci z AT i NBS mają duże znaczenie poznawcze i praktyczne. Należy podkreślić, że powyższe badanie jest pierwszym, które ocenia zarówno enzymatyczną, jak i nieenzymatyczną obronę antyoksydacyjną, jak również analizuje podobieństwa/różnice w występowaniu zaburzeń/uszkodzeń oksydacyjnych pomiędzy pacjentami z AT i NBS. Stwierdzone zaburzenia oksydacyjne mogą prowadzić do zmiany komórkowej homeostazy redoks, a tym samym wpływać na kształtowanie się charakterystycznego fenotypu AT i NBS oraz przebieg procesu chorobowego. Badania przeprowadzone u pacjentów z AT i NBS wykazały znaczący spadek całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS) przy wzroście wskaźnika stresu oksydacyjnego. Obniżone stężenia alfa-tokoferolu i koenzymu Q10 w obu badanych grupach dzieci, w porównaniu do grup kontrolnych, wskazują na potencjalne kierunki dalszych działań praktycznych. Potwierdzeniem znaczenia uzyskanych wyników jest

fakt stwierdzenia występowania oksydacyjnych uszkodzeń białek, lipidów oraz DNA. Wykazanie po raz pierwszy (w dostępnym piśmiennictwie nie ma takich danych) występowania podwyższonego stężenia 8-oksyo-2'-deoksyguanozyny, będącego czułym wskaźnikiem oksydacyjnego uszkodzenia DNA (potencjalnie o działaniu mutagennym), może mieć niezwykle istotne znaczenie dla dalszych badań oraz postępowania w AT i NBS. Do ciekawych obserwacji należy stwierdzenie większych niż w grupach kontrolnych aktywności peroksydazy glutationowej i katalazy (przy niezmienionej aktywności dysmutazy) oraz wysokich stężeń kwasu moczowego (różnica istotnie statystyczna w stosunku do grupy kontrolnej dla AT) i retinolu (różnica istotnie statystyczna w stosunku do grupy kontrolnej dla NBS), których potencjalna interpretacja nie wydaje się być prosta. Na stronie 78 przedstawiono korelacje pomiędzy poszczególnymi markerami równowagi oksydoredukcyjnej oraz wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi – niewątpliwie rodzi się pytanie dotyczące przyczyn ich występowania oraz obserwowanych różnic pomiędzy badanymi jednostkami chorobowymi.

W dyskusji odniesiono się do uzyskanych wyników w kontekście piśmiennictwa, głównie anglojęzycznego. Łącznie w pracy posłużono się 440 pozycjami piśmienniczymi, co świadczy o starannej literaturze przedmiotu pracy.

Wnioski generalnie stanowią odpowiedź na postawione pytania. Na podkreślenie zasługuje ich istotne znaczenie poznawcze i praktyczne. Można by natomiast rozważyć połączenie wniosków 2 i 6 oraz 3 i 4.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na konieczność wprowadzenia pewnych zmian edytorskich, związanych z nieprawidłowym używaniem sformułowań większy / wyższy oraz mniejszy / niższy, a także potrzebę korekty interpunkcyjnej.

W oparciu o pozytywny wynik dokonanej przeze mnie recenzji rozprawy doktorskiej lekarz Edyty Heropolitańskiej-Pliszka "Wybrane parametry biochemiczne w najczęstszych zespołach przebiegających z zaburzeniami naprawy DNA", która spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 poz 595 z późniejszymi zmianami) wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pani lek. Edyty Heropolitańskiej-Pliszka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy. Moim zdaniem stanowi ona oryginalny wkład w naszą wiedzę dotyczącą pierwotnych niedoborów odporności. Na uwagę i podkreślenie zasługuje wiele elementów – począwszy od literatury

przedmiotu, poprzez zastosowanie dobrego warsztatu badawczego, do umiejętności dyskusowania. Moje szczególne uznanie wzbudza fakt objęcia badaniem unikalnych grup pacjentów. Analiza prowadzona jest w logiczny sposób. Rozprawa została wykonana starannie, dowodzi posiadania stosownej wiedzy i pasji badawczej, a jej efektem są istotne poznawczo i praktycznie wnioski. Podniesione w recenzji uwagi nie mają znaczenia dla bardzo wysokiej oceny wartości pracy.

Poznań, 18.06.2019

KIEROWNIK
Kliniki Gastroenterologii Dziecięcej
i Chorób Metabolicznych
Jarosław Walkowiak
Prof. dr hab. Jarosław Walkowiak