



Dr hab. Sylwia Chojnowska

Wydział Nauk o Zdrowiu

Państwowa Wyższa Szkoła Informatyki i Przedsiębiorczości w Łomży

ul. Akademicka 14, 18-400 Łomża

tel.: +48 86 215 66 08

e-mail: [schojnowska@pwsip.edu.pl](mailto:schojnowska@pwsip.edu.pl)

---

### Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. med. Marleny Jamiolkowskiej-Stawowskiej pt.: „Ocena wpływu preparatów toksyny botulinowej typu A na wybrane funkcje fibroblastów skóry ludzkiej”, napisanej pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Haliny Car w Zakładzie Farmakologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Toksyna botulinowa (BTX), wytwarzana przez beztlenową Gram (+) pałeczkę *Clostridium botulinum*, jest jedną z najsilniejszych neurotoksyn występujących w środowisku naturalnym. Rozróżnia się 8 podtypów serologicznych BTX, oznaczonych kolejno literami alfabetu od A do G i X. Podtypy serologiczne BTX różnią się masą cząsteczkową, budową antygenową, immunogennością, powinowactwem do receptorów, umiejscowieniem kodujących je genów oraz czasem działania biologicznego. W leczeniu stosowane są podtypy BTX A i BTX B. Zastosowanie toksyny botulinowej w medycynie jest coraz szersze. BTX wykorzystuje się już nie tylko jako podstawowy składnik preparatów stosowanych w zabiegach medycyny estetycznej, ale także w neurologii, okulistyce, stomatologii, urologii, gastroenterologii, czy ginekologii, co świadczy o aktualności i znaczeniu tematu podjętego przez lek. med. Marlenę Jamiolkowską-Stawowską.

Dostarczona mi do recenzji praca obejmuje 194 strony maszynopisu, w tym 101 tabel, 92 ryciny i 134 pozycje piśmiennictwa, głównie anglojęzycznego. Całość rozprawy podzielona jest na części: **Wstęp**, **Cel pracy**, **Materiały i metody** oraz **Wyniki** wraz z ich **Dyskusją**, jak również **Wnioski** i **Streszczenia** oraz **Piśmiennictwo**. Rozdziały pracy



poprzedzone są **Spisem treści** i **Wykazem skrótów**. Ponadto zamieszczono **Spisy tabel** i **rycin**. Taki układ pracy jest logiczny i typowy dla rozpraw doktorskich.

We **Wstępie**, liczącym 14 stron maszynopisu, Autorka wyczerpująco opisuje toksynę botulinową: pochodzenie, budowę, mechanizm działania biologicznego, zastosowanie w medycynie oraz szczegółowo omawia dwa preparaty toksyny botulinowej typu A (Botox i Bocouture) oceniane w dysertacji.

**Celem pracy** lek. med. Marleny Jamiolkowskiej-Stawowskiej była ocena wpływu dwu preparatów toksyny botulinowej typu A na regulację funkcji fibroblastów w hodowlach skóry ludzkiej, w celu poszukiwania nowych możliwości wspomagania procesów regeneracji i odmładzania skóry. W pracy oceniono wpływ dwu dawek (2 j.m. i 4 j.m.) preparatów Botox (Bx, onabotulinumtoxin A – toksyna związana z białkami kompleksującymi) i Bocouture (Bc, incobotulinumtoxin A - czysta toksyna) na hodowane fibroblasty: przeżywalność, syntezę DNA, stężenie kwasu hialuronowego, stężenie kwasu moczowego, aktywność peroksydazy glutationowej oraz na całkowity potencjał oksydacyjny komórek skóry.

W rozdziale **Materiały i metody** Autorka opisała w sposób umożliwiający powtórzenie doświadczeń: linię komórkową, odczynniki, warunki hodowli oraz metodykę oznaczeń. Trudno jednak przeanalizować charakterystykę grup i prób („...18 grup badanych po 6 prób”) w połączeniu z opisem grup (podzielone na 3 części: *kontrolne, po podaniu preparatu Botox, po podaniu preparatu Bocouture, z których każda zawiera 10 podgrup, bez opisu liczby próbek w każdej podgrupie*). Otrzymane wyniki Autorka poddała analizie statystycznej, wykorzystując w tym celu pakiet Statistica 10.0 (StatSoft, Kraków, Polska). W związku z brakiem rozkładu normalnego badanych parametrów Doktorantka zastosowała metody nieparametryczne: test U Manna-Whitney’a (dla oceny różnic w rozkładzie zmiennych ilościowych pomiędzy dwoma grupami) oraz test ANOVA Kruskala-Wallisa i test mediany (dla oceny różnic w rozkładzie zmiennych ilościowych pomiędzy wieloma grupami).

Doktorantka wykonała bardzo dużą ilość analiz, które dostarczyły ponadprzeciętnie obszerny zestaw **wyników**, których przedstawienie (w postaci 100 tabel i 86 rycin) zajęło aż 111 stron. Wszystkie tabele i ryciny zostały opatrzone stosownymi komentarzami.

**Omówienie wyników i dyskusja** są przeprowadzone rzeczowo, zwięźle i logicznie (mimo bardzo rozległego zestawu otrzymanych wyników). Świadczy to o znajomości literatury przedmiotu oraz o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników i po przeprowadzeniu dyskusji, Autorka sformułowała **5 wniosków**:



1. Preparat Bocouture i Botox różnią się wpływem na przeżywalność fibroblastów i syntezę DNA zależnym głównie od czasu ekspozycji.
2. Bocouture i Botox mają podobną dynamikę wpływu na przeżywalność i syntezę DNA porównywalną dla obu stosowanych dawek.
3. Stężenie kwasu hialuronowego w fibroblastach zwiększa Bocouture, aczkolwiek oba preparaty powodują wzrost stężenia HA wraz ze wzrostem dawek i czasu ekspozycji.
4. Antyoksydacyjną mobilizację fibroblastów odnotowano po Bocouture, a osłabioną po zastosowaniu Botox, co sugeruje ochronną rolę białek kompleksujących ww. zakresie.
5. Preparaty Bocouture i Botox różnią się efektywnością w zakresie przeżywalności fibroblastów skóry, syntezy DNA, stężenia HA, c. z. białka oraz ochrony antyoksydacyjnej.

Podczas przygotowywania pracy do druku proponuję:

- a) sprawdzić pracę pod kątem literówek, błędów interpunkcyjnych i stylistycznych oraz skorygować błędnie przypisane do nazw skróty (np.: str. 158: „...kwas moczowy (HA)");
- b) uzupełnić/poprawić niektóre z opisów skrótów zawartych w Wykazie skrótów:
  - zamiast: „GPx - (ang. peroxidase) peroksydaza glutationowa” powinno być: „GPx - (ang. **glutathione** peroxidase) peroksydaza glutationowa”
  - zamiast: „J - dżul” powinno być: „J - (**ang. Joule**) dżul”
  - zamiast „C - (lac. carbo) węglowy koniec łańcucha cząsteczki” powinno być: „C - C końcowy aminokwas łańcucha polipeptydowego, czyli aminokwas posiadający wolną grupę alfa-karboksylową”
  - zamiast: „DMSO - (ang. dimethylsulfoxide) dimetylsulfotlenek” powinno być: „DMSO - (ang. dimethylsulfoxide) dimetyl**o**sulfotlenek”
  - zamiast: „DTNB - (ang. 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) kwas 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzenowy” powinno być: „DTNB - (ang. 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) kwas 5,5'-ditio-bis-2-nitro**benzoesowy**”
  - zamiast: „N- (lac. nitrogenium) azotowy koniec łańcucha cząsteczki” powinno być „N - aminowy koniec cząsteczki polipeptydu”
  - zamiast: „OD - odczyt próby” powinno być: „OD – (ang. optical density) gęstość optyczna”
  - wzór wodorotlenku sodu NaOH nie powinien być wykazywany, jako skrót;



- a) ujednolicić sposób zapisu jednostek (w tekście spotyka się ml, ale też  $\mu\text{L}$ ) oraz wykazać wszystkie stosowane jednostki w wykazie skrótów;
- c) ujednolicić opis rycin (w tekście spotykane są różne opisy: *ryc. 1, Rycina 1, rycina 2, etc.*);
- d) ujednolicić tytuły podrozdziałów w rozdziale „**2.1.3.1. Toksyna botulinowa w dermatologii i medycynie estetycznej**”;
- e) Rycina 4 jest nieczytelna i trudno jej zawartość połączyć z podpisem;
- f) dokładnie opisać liczebność grup oraz prób w poszczególnych grupach;
- g) słupki przedstawiające wyniki proponuję połączyć w sposób ułatwiający analizę, np. ryc. 7+8; 9+10+11; 12+13; 14+15+16, itd.;
- h) przy formułowaniu wniosków: 1, 3, 5 proponuję napisać na czym polegają różnice, a nie tylko wskazać ich istnienie; we wniosku 2 doprecyzować, czym różni się wpływ od dynamiki wpływu, a wniosek 4 napisać jaśniej;
- i) ujednolicić sposób cytowania pozycji książkowych w spisie literatury.

W podsumowaniu stwierdzam, że wymienione powyżej niedociągnięcia nie mają istotnego wpływu na wartość pracy doktorskiej **lek. Marleny Jamiołkowskiej-Stawowskiej pt.: „Ocena wpływu preparatów toksyny botulinowej typu A na wybrane funkcje fibroblastów skóry ludzkiej”**. Niniejszą dysertację oceniam pozytywnie i oświadczam, że spełnia ona warunki stawiane pracom doktorskim określone w art. 13.1. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.): *„...Rozprawa doktorska... powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego... oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej... umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej...”*.

W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie lek. med. Marleny Jamiołkowskiej-Stawowskiej do dalszych etapów powstępowania w przewodach doktorskich.

Dr hab. Sylwia Chojnowska