Ocena rozprawy doktorskiej

lek. Oresta Szczygielskiego

pt. „Ocena aktywności enzymatycznej metaloproteinaz MMP-3 i MMP-9 w ślinie pacjentów z rozszczepem wargi i/lub podniebienia (Poziom wybranych metaloproteinaz oraz ich inhibitorów w ślinie osób z rozszczepem szczęki)".

Rozszczepy wargi i/lub podniebienia występują najczęściej na skutek zmian zachodzących w embriogenezie pomiędzy 4. a 7. oraz 5. a 12. tygodniem ciąży. Najczęstszą są wadą wrodzoną i dotyczą około 1 na 700 żywych urodzeń na całym świecie/rok. Dotychczas przeprowadzone badania, szczególnie genetyczne, pozwoliły zidentyfikować kilka genów, które mogą odgrywać rolę w patogenezie rozszczepów jamy ustnej. Dodatkowo stwierdzono, że rozszczepy jamy ustnej mogą być następstwem działania wielu czynników środowiskowych, które powodują zmiany w specyficznych białkach sygnałowych, indukując rozszczep wargi i/lub podniebienia. Zarówno MMPs, jak i TIMPs występują w wysokich stężeniach w organizmie podczas rozwoju embrionalnego. Enzymy te są odpowiedzialne za katabolizm macierzy zewnątrzkomórkowej, a tym samym mogą być czynnikiem biorącym udział w procesie rozszczepu wargi i/lub podniebienia.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pana lek. Oresta Szczygielskiego jest 88-stronicową pracą, zawierającą 6 tabel, 22 ryciny i 122 pozycje piśmiennictwa. Struktura rozprawy jest typowa dla prac doktorskich.

W rozdziale **„Wstęp"**, mieszczącym się na 39 stronach, Doktorant szczegółowo przybliżył etiopatogenezę wad rozszczepowych, ich rodzaje, występowanie i etiologię oraz scharakteryzował ślinę pod kątem jej wykorzystania jako materiału diagnostycznego. Autor przedstawił również dostępną wiedzę na temat metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej i ich tkankowych inhibitorów.

W **„Celach pracy"** Doktorant postawił sobie dwa zadania badawcze:

1. ocenę stężenia metaloproteazy -3 i -9 i ich inhibitora TIMP-3 w ślinie dzieci z rozszczepami twarzoczaszki w porównaniu ze stężeniem tych MMPs i inhibitora u pacjentów zoperowanych z powodu wady rozszczepowej, jak i u dzieci bez wady rozszczepowej oraz
2. ocenę współwystępowania MMP-3, MMP-9 i TIMP-3 z rozszczepem twarzoczaszki określoną poprzez wyliczenie czułości i swoistości diagnostycznej, dodatniej i ujemnej wartości predykcyjnej (PPV, NPV) oraz mocy diagnostycznej testu, poprzez analizę pola powierzchni pod krzywą ROC (AUC).

W rozdziale **„Materiały i metody"** Doktorant przedstawił dane dotyczące osób włączonych do badania oraz metodologię zbierania materiału badawczego i wykonanych oznaczeń biochemicznych. Badania przeprowadzono na 120 osobach, które podzielono na 3 grupy badane:

1. 40 pacjentów z rozszczepem twarzoczaszki leczonych w Klinice Leczenia Wad Twarzoczaszki Formmed (Babice Nowe koło Warszawy, kierownik prof. dr hab. n. med. Zofia Dudkiewicz),
2. 40 pacjentów, którzy przeszli z sukcesem operację z powodu rozszczepu wargi i/lub podniebienia oraz
3. 40 osób bez rozszczepu twarzoczaszki, którzy stanowili grupę kontrolną.

Doktorant w sposób szczegółowy opisał proces pobierania i przechowywania śliny jako materiału diagnostycznego.

W uzyskanym materiale badawczym Doktorant ocenił metodą immunoenzymatyczną (ELISA) ilość metaloproteinaz MMP-3 i MMP-9 oraz tkankowego inhibitora TIMP-3. Następnie, w oparciu o parametry matematyczno-diagnostycznej analizy wyników, wyliczył przydatność diagnostyczną uzyskanych wyników jako: czułość i swoistość diagnostyczną, dodatnią i ujemną wartość predykcyjną i moc diagnostyczną testu.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników została wykonana prawidłowo. Stosując program Statistica 10.0, gdy badane próby nie wykazywały rozkładu normalny, wykonano test

U Manna-Whitneya i Wilcoxona. Wyniki uznano za istotne statystycznie na poziomie istotności $p<0.05$.

Rozdział **„Wyniki"** stanowi 12 stron dysertacji. W omówieniu uzyskanych danych bardzo pomagają umieszczone w nim tabele i ryciny. Pan lek. Orest Szczygielski wykazał, że u osób, które cierpiały na rozszczep, i są już po operacji, wartość MMP-3 istotnie obniża się w stosunku do wartości uzyskanej u osób, które jeszcze nie przeszły operacji (znamienność statystyczna $p<0,001$). Wartości MMP-9 u osób chorych na rozszczepienie wargi szczęki/podniebienia, którzy jeszcze nie byli operowani była istotnie niższa, niż w grupie kontrolnej (znamienność statystyczna $p<0,001$). Poziom TIMP-3 nie wykazywał żadnych różnic znamiennych statystycznie. Wyniki dotyczące czułości diagnostycznej, swoistości oceny, wartości predykcyjnej wyniku dodatniego, wartości predykcyjnej wyniku ujemnego oraz mocy diagnostycznej testu Autor przedstawił za pomocą czytelnych, kolorowych rycin.

W rozdziale **„Dyskusja"** Pan lek. Orest Szczygielski wnikliwie omówił uzyskane wyniki. Prawidłowo dokonał analizy otrzymanych danych z tymi pochodzącymi z dostępnego piśmiennictwa krajowego i zagranicznego. Dyskusja jest syntetyczna. Doktorant prawidłowo stosuje nomenklaturę fachową. Przedstawiona do oceny praca wskazuje na to, że Autor bardzo dobrze opanował technikę pisania tego typu prac, co świadczy o opanowaniu warsztatu badawczego i znajomości literatury. Piśmiennictwo wykorzystane w tym rozdziale stanowią same artykuły, w 96% anglojęzyczne i w 68% z ostatnich 15 lat.

Rozprawę kończą trzy, prawidłowo sformułowane, **wnioski** podsumowujące dysertację, które odpowiadają postawionym na początku pracy celom badawczym. Zabrakło mi w nich tylko szczegółowego odniesienia do wykonanych analiz matematycznych dotyczących czułości i swoistości diagnostycznej oraz wartość predykcyjnej wyniku dodatniego i ujemnego czy mocy diagnostycznej wykorzystanego w badaniach testu.

Niestety Doktorant nie ustrzegł się niedociągnięć w trakcie tworzenia przedstawionej do oceny dysertacji jak np.: wykaz skrótów nie jest ułożony alfabetycznie i jest niekompletny (PRWWR), przy części skrótów nie jest podana ich pełna wersja anglojęzyczna, na stronie 11

brakuje podania źródła cytowania o wadach wrodzonych izolowanych i zespołowych. Występują również nieliczne błędy edytorskie (na stronach np.: 42 i 43 brak wyjustowania tekstu) oraz językowe (brak przecinków w odpowiednich miejscach). Zabrakło mi również informacji o uzyskaniu pisemnej zgody pacjentów (opiekunów prawnych) na przeprowadzenie badań oraz o uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej. Jednakże przedstawione przeze mnie uwagi nie umniejszają merytorycznej wartości dysertacji.

Podsumowując stwierdzam, że praca napisana jest zgodnie z wymogami, Doktorant pokazał, że posiada wiedzę naukową i doświadczenie laboratoryjne, co umożliwiło prawidłowo zaplanować badania, wykonać oznaczenia i na podstawie otrzymanych wyników poprawnie sformułować wnioski i w związku z powyższym oceniam pracę pozytywnie.

Biorąc pod uwagę wszystkie elementy przeprowadzonej oceny mogę z pełną odpowiedzialnością stwierdzić, że rozprawa doktorska Pana **lek. Oresta Szczygielskiego** pt. **„Ocena aktywności enzymatycznej metaloproteinaz MMP-3 i MMP-9 w ślinie pacjentów z rozszczepem wargi i/lub podniebienia (Poziom wybranych metaloproteinaz oraz ich inhibitorów w ślinie osób z rozszczepem szczęki)"** spełnia wymogi określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65. poz.595). Dlatego zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pana lek. Oresta Szczygielskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

DZIEKAN
WYDZIAŁU NAUK O ZDROWIU
Małgorzata Knaś
dr hab. Małgorzata Knaś, prof. PWSIiP