



RECENZJA

rozprawy doktorskiej p. mgr **Piotra Wójcika**

pt.: *Redox balance and changes in lipid and protein metabolism in patients with psoriasis* (Równowaga redoks i zmiany w metabolizmie lipidów i białek u pacjentów z łuszczycą) wykonanej w Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
promotorzy: prof. dr hab. Elżbieta Skrzydlewska i prof. Neven Žarkovic,
promotor pomocniczy: dr Agnieszka Gęgotek

Wśród chorób autoimmunologicznych łuszczycy jest jedną z najczęściej występujących. Jej rozwojowi towarzyszy stres oksydacyjny i prozapalna aktywacja komórek nie tylko skóry ale również krwi. Te zmiany metaboliczne powodują i nasilają proliferację i akumulację keratynocytów, tworzących blaszki łuszczycowe, i jak to słusznie przedstawił Doktorant, są kliniczną manifestacją łuszczycy pospolitej. Rozwój i powszechność tej choroby powoduje tworzenie się różnych odmian w tym np. łuszczycowego zapalenia stawów. Dlatego konieczne jest poszukiwanie i realizacja badań umożliwiających jeszcze lepiej i bardziej precyzyjnie poznać i opisać mechanizmy wynikające z przemian metabolicznych spowodowanych np. stresem oksydacyjnym i naruszeniem równowagi substancji biologicznie czynnych (np. gospodarka lipidowa) na poziomie komórkowym w różnych odmianach tej choroby. Tym zagadnieniom poświęcona jest niniejsza dysertacja, która w szerokim zakresie różnorodnych eksperymentów przedstawia i opisuje w bardzo przejrzysty i jednoznaczny sposób te skomplikowane ale fascynujące zagadnienia.

Ocenianą dysertację stanowi opracowanie, napisane w języku angielskim, składające się ze 173 str. podzielone na kilka części-rozdziałów. Główną częścią tego opracowania jest 6-ć reprintów publikacji naukowych, opublikowanych w specjalistycznych, prestiżowych czasopismach. Autor starał się skonstruować tak to opracowanie aby zachować wymagane przepisami zasady i reguły. A więc, część pierwsza to wprowadzenie w formie tzw. **autoreferatu**, w którym zasygnalizowane zostały informacje na temat głównego kierunku badań tj. stresu oksydacyjnego. Dalej, wprowadzicie w sposób schematyczny, Autor przedstawił mechanizm tego procesu, jako integralną część przemian **metabolomicznych** przebiegających w

organizmach żywych na poziomie komórkowym. Zwrócił uwagę na czynniki mające wpływ na ten proces. Opisał również mechanizmy tworzenia się i zmian wywołanych w przebiegu choroby jaką jest łuszczyca. Zwrócił uwagę na rolę i znaczenie cytokin. To bardzo skrótowo i chyba zbyt schematycznie, ale dobrze napisana, część. Kolejny punkt, stanowiący element aktualnego stanu wiedzy, poświęcony został kannabidiolowi, związkowi z grupy fitokannabinoidów, jako nowość terapeutyczna, mająca wpływ na zmniejszenie stanu zapalnego oraz przebieg stresu oksydacyjnego. To ciekawa, jednak nie do końca jeszcze przebadana terapia, chociaż zasygnalizowana i opisana w literaturze fachowej przed dziesięciu laty. Postawione przez p. Promotorów (aż trzech!!!!) i Doktoranta **cele** oraz **zadania**, to kolejny punkt realizacji zgodny z ambitnym harmonogramem. Muszę w tym miejscu trochę pomarudzić, gdyż we wstępie - autoreferacie, spodziewać się należało troszeczkę rozszerzonej wersji omawianych zagadnień. Sprawę załatwiają dwie prace przeglądowe stanowiące ekwiwalent aktualnego stanu wiedzy i techniki. To ciekawe i dobrze przedstawione studium, które winno być wg mnie, umieszczone we wstępnej części opracowania. Dobrze korespondowałyby to z całością opracowania i wprowadziłyby czytelnika w zagadnienia eksperymentalne pracy. Niby tak jest, bo praca przeglądowa poprzedza eksperymentalną, ale mimo wszystko utrudnia kompleksową ocenę całości. Podobnie, brakuje zintegrowanej informacji nt. realizacji poszczególnych zadań, opracowań metodycznych, użytego sprzętu i oprogramowania, ect, ect. Niby to wszystko czytelnik znajdzie w poszczególnych czterech publikacjach eksperymentalnych ale rozproszenie utrudnia globalną ocenę zamierzeń i kompatybilność z wytyczonymi celami. Całość spinają **kopie publikacji** (4-ry eksperymentalne i 2 przeglądowe), na podstawie których powstało oceniane opracowanie oraz **dyskusja** i **wnioski**. Do tego należy dodać **inne dokumenty uzupełniające** tj. spis literatury (103 pozycje), wniosek i zgoda Komisji Bioetycznej UMB, oświadczenia autorskie Doktoranta oraz współautorów. Opracowanie zawiera również CV i wykaz dorobku naukowego Doktoranta oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Dokumentacja więc jest kompletna i nie budzi zastrzeżeń pod względem formalnym.

Opiniując niniejszą rozprawę, nie mam najmniejszych wątpliwości, że ma ona charakter wielokierunkowy, a jej tematyka łączy zagadnienia badań podstawowych z elementami praktycznymi, możliwymi do wykorzystania zarówno w badaniach laboratoryjnych (opis mechanizmów), diagnostyce jak i bezpośredniej terapii. Bez wątplenia mieści się to w przedziale tzw. **nowości naukowej**. Jej zasadniczym celem było określenie zmian metabolicznych, a w szczególności metabolizmu fosfolipidów w warunkach stresu oksydacyjnego towarzyszącego zarówno rozwojowi łuszczycy

zwykłej jak i łuszczycowego zapalenia stawów oraz zbadanie czy kannabidiol może wykazywać skuteczne działanie terapeutyczne w tej chorobie.

Zasadniczą treść rozprawy doktorskiej stanowi cykl monotematycznych 6-ciu publikacji, opublikowanych w specjalistycznych czasopismach z tzw. listy JCR. Analizując stanowiące ekwiwalent rozprawy doktorskiej publikacje należy stwierdzić, że prace te powstały w latach 2019-2021. A więc są to publikacje bardzo aktualne i „młode”.

Jak wspomniałem wcześniej przedstawioną do recenzji dysertację p. mgr Piotra Wójcika stanowi cykl 6-ciu prac, które były już oceniane przez co najmniej 2 - 4 niezależnych, międzynarodowych ekspertów powołanych przez edytorów takich czasopism jak: *J. Biochem.* (1 x IF = 2.476), *Int. J. Mol. Sci.* (2 x IF = 4,556 + 2 x 5.924), *Biomolecules* (1 x IF = 4.082). Łączny *Impact Factor* tych 6-ciu publikacji wynosi 27.518. Daje to bardzo dobrą średnią w przeliczeniu na jedną pracę **IF = 4.586**. Dobrze to też świadczy o p. Promotorach i Doktorancie, i ich chęciach konfrontacji swoich osiągnięć poprzez wybór specjalistycznych i prestiżowych czasopism. W tym miejscu należy zaznaczyć, że wyniki tych prac były też przedmiotem dyskusji poprzez prezentację na konferencjach i spotkaniach naukowych z zakresu badania metabolizmu lipidów i białek i ich wpływu na stres oksydacyjny na poziomie komórkowym.

Analizując zamieszczone kopie publikacji stwierdzam, że są to typowe dla tej dyscypliny prace wieloautorskie (4 - 5 współautorów, uwzględniając Promotorów). We wszystkich przypadkach Doktorant jest pierwszym autorem. Wskazuje to jednoznacznie na Jego dominujący udział w przygotowaniu niniejszego opracowania, jak też planu, wypracowania koncepcji oraz realizacji ujętych harmonogramem badań. Podobnie domniemać można, że to właśnie na Doktorancie spoczywała interpretacja uzyskanych wyników i przygotowanie manuskryptów przesłanych do redakcji. Potwierdzeniem tego są zamieszczone oświadczenia współautorskie oraz zawarte w nich deklaracje.

Część eksperymentalną rozprawy stanowią *de facto* 4-ry publikacje opisujące systematyczne badania porównawcze nad obu odmianami łuszczycy. Rozważania te uzupełniają dwa artykuły przeglądowe w oparciu o które budowana jest część dyskusyjna i interpretacja uzyskanych wyników. Doktorant wykazał, iż limfocyty pacjentów cierpiących na łuszczycę charakteryzują się zwiększoną produkcją reaktywnych form tlenu. W obu odmianach łuszczycy prowadzi to do wzrostu ekspresji czynnika erytroidalnego i aktywacji szlaku Nrf2. Badania wykazały, że efekt ten jest bardziej nasilony w przypadku łuszczycowego zapalenia stawów. Doktorant wykazał, że pomimo aktywacji Nrf2 obserwuje się ogólny spadek aktywności działania antyoksydantów, a rozwojowi łuszczycy towarzyszy stres oksydacyjny prowadzący do zwiększonej peroksydacji lipidów zależnej od reaktywnych form tlenu oraz metabolizmu fosfolipidów zależnych od enzymów.

Prowadzi to do nasilenia generacji endokannabinoidów i eikozanoidów w obu postaciach łuszczycy. Pierwsza grupa związków jest na wyższym poziomie zarówno w przypadku łuszczycy pospolitej jak i łuszczycowego zapalenia stawów, a ich receptory (CB1 i CB2) są silniej aktywowane w przypadku łuszczycy pospolitej. Aktywacja receptorów CB2 w leukocytach działa przeciwutleniająco i przeciwzapalnie, a ich zredukowana ekspresja w limfocytach może odpowiadać za cięższy przebieg kliniczny łuszczycowego zapalenia stawów.

Innym interesującym wynikiem badań jest stwierdzenie, iż stresowi oksydacyjnemu ulegają też neutrofile pacjentów z łuszczycą. W konsekwencji prowadzi to do zwiększenia aktywacji oksydazy NADPH i nasilenia procesu obronnego zwanego NET-ozą. Zastosowanie kannabidiolu, jako czynnika antyoksydacyjnego, powoduje ograniczenie pro-NETotycznych tendencji w łuszczycy, co może być korzystne w procesie terapeutycznym. Ponadto kannabidiol, może być nie tylko użyteczny w leczeniu łuszczycy z powodu interakcji z leukocytami ale może bezpośrednio oddziaływać z keratynocytami, szczególnie poprzez modulację ich apoptozy. Jak wykazały badania proces apoptozy może przebiegać różnorako a znaczący wpływ na to ma promieniowanie UVB, które z jednej strony może nasilać apoptozę zmienionych chorobowo keratynocytów, a z drugiej strony zastosowanie kannabidiolu chroni przed apoptozą szczególnie zdrowe keratynocyty poprzez zmniejszenie ekspresji białek proapoptycznych. To ciekawy, aktualny i ważny nie tylko z medycznego ale i społecznego punktu widzenia temat i zachęcam Pana do jego kontynuowania.

W tym miejscu należy stwierdzić, że założony przez Państwa Promotorów i Doktoranta **cel** został **osiągnięty**. Mam jednak kilka pytań i uwag dotyczących zarówno zagadnień nomenklaturowych jak i uzyskanych wyników:

1. Szkoda, że w opracowaniu nie pojawił się wykaz skrótów i symboli w języku polskim. Chodzi o względy nomenklaturowe i czystość języka. Owszem w opracowaniu tego typu wyjaśnienia czytelnik znajdzie, choćby w poszczególnych publikacjach, nie mniej istnieją znaczące różnice nomenklaturowe między polskim a angielskim sformułowaniem i te „dziwolągi językowe” rażą. Kto ma to zrobić jak nie fachowcy?
2. Czy nie zastanawiał się Pan nad możliwością zastosowania innych fito-oksydantów. Ciekawą grupą związków izolowanych z rodzimych roślin uprawnych są cyklitole. Dostyc dobrze są one opisane w literaturze. Dużą aktywność w zastosowaniu tej grupy związków dla potrzeb terapii dermatologicznych, w kontekście łuszczycy, wykazuje grupa prof. W. Placka i prof. A. Owczarczyk-Saczonek, nic Pan na ten temat nie

wspomina. Czy mógłbym prosić o komentarz w tej kwestii. Jakie jest Pana zdanie na ten temat?

3. Jednym z ważnych czynników odpowiedzialnych za precyzyjne określenie szlaku metabolicznego jest dobrze zaplanowana i zrealizowana analityka, a zwłaszcza selektywność układu. Jakimi kryteriami kierował się Pan przy wyborze i doborze warunków wykonanych/przeprowadzonych oznaczeń?

Powyższe uwagi i wątpliwości nie mają wpływu na merytoryczną wartość ocenianej dysertacji. Recenzent jest pod wrażeniem wykonanej pracy i solidności prezentowanych danych. Przedstawione przeze mnie uwagi są elementem dyskusji i dlatego poddaję je polemice mając nadzieję na uzyskanie odpowiedzi oraz wyjaśnienie w trakcie publicznej obrony.

Uważam, że w świetle obowiązujących przepisów (Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*), a w szczególności artykuły i przepisy; *O stopniach naukowych i tytule naukowym* wraz z uzupełnieniami przedstawiona rozprawa spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie p. **mgr Piotra Wójcika** do dalszych etapów postępowania celem uzyskania stopnia **doktora nauk** w dyscyplinie **nauk medycznych**, w dziedzinie **nauk medycznych i nauk o zdrowiu**.

Pracą swoją, tematyką i zakresem (interdyscyplinarny charakter), nowatorstwem, użytecznością i jakością (6-ć prac naukowych opublikowanych zostało w prestiżowych czasopismach z tzw. *listy JCR*), zdecydowanie wykracza poza ogólnie przyjęte standardy. Swoją treścią wnosi również znaczący wkład w rozwój dyscypliny i rzuca nowe światło na opis i zrozumienie mechanizmów związanych z przemianami biogennymi przebiegającymi na poziomie komórkowym. Biorąc pod uwagę wymagania stawiane tego typu rozprawom z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Dyscypliny Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o jej **wyróżnienie**.

Stary Toruń, 18 lipiec 2022 r.



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