

Recenzja pracy
Wniosek o habilitację

Pracownik
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki

prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Zakład Chemii Medycznej

Adres: 70-111 Szczecin, Al. Powstańców Wlkp. 72

Tel./fax: (91) 466-16-44 / 466-16-41

Kierownik: prof. dr hab. n. zdr. Izabela Gutowska

Szczecin, 02.06.2023

Ocena

rozprawy doktorskiej lek Anny Piórkowskiej pod tytułem:

"Ocena zależności między stężeniem melatoniny, witaminy D, wybranych adipocytokin i wykładników stanu zapalnego a poziomem metabolicznego wyrównania cukrzycy typu 2",
wykonanej i napisanej pod kierunkiem dr hab. Karoliny Szewczyk-Golec, prof. UMK;
promotor pomocniczy: dr n. med. Anna Kamińska

Cukrzyca to choroba metaboliczna charakteryzująca się hiperglikemią, spowodowaną nieprawidłowym wydzielaniem i/lub działaniem insuliny. Aktualne dane epidemiologiczne podają, że 9% dorosłych choruje na cukrzycę, natomiast badania retrospektywne wykazały, że w 2012 roku z powodu tej choroby zmarło 1,5 mln osób. Według Światowej Organizacji Zdrowia w 2030 roku cukrzyca będzie siódmą przyczyną wszystkich zgonów na świecie. Rozwój gospodarczy, modernizacja, spożywanie niezdrowej diety, starzenie się populacji i siedzący tryb życia to główne czynniki odpowiedzialne za wzrost liczby osób z nadwagą i otyłością, które sprzyjają rozwojowi cukrzycy. Co istotne z roku na rok liczba nowo rozpoznanych przypadków osób z cukrzycą wzrasta w prawie każdej z grup wiekowych, z przewagą chorujących mężczyzn.

Cukrzyca typu 2 stanowi duże wyzwanie dla współczesnej medycyny. Nieprawidłowo kontrolowana prowadzi do licznych i groźnych dla życia pacjenta powikłań narządowych. Jednak dzięki odpowiedniemu wyrównaniu metabolicznemu u chorych, u których powikłania już się rozwinęły, można spowolnić ich progresję. Dążąc do jak najlepszego wyrównania metabolicznego cukrzycy precyzyjnie zdefiniowano cele w jej leczeniu, które obejmują uzyskanie wartości docelowych w zakresie glikemii, ciśnienia tętniczego, profilu lipidowego oraz prawidłowej masy ciała.

Ostatnie doniesienia naukowe wskazują, że zaburzone wydzielanie adipocytokin oraz wykładników stanu zapalnego, jak również niedobór witaminy D i melatoniny mogą mieć swój udział w rozwoju cukrzycy typu 2. Jednak zagadnienia te nie są dostatecznie wyjaśnione, a wyniki badań są niejednoznaczne. W przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej lek Anna Piórkowska opisuje wyniki przeprowadzonych badań, w których podjęła się określenia czynników mogących w istotny sposób predysponować do rozwoju insulinooporności, a następnie cukrzycy typu 2. Badania takie były już

prowadzone, jednak nie obejmowały tak szerokiego i holistycznego ujęcia oraz analizy oddziaływania tak dużej liczby badanych predyktorów, przez co podjęte przez Doktorantkę są uzasadnione i stanowią ważny problem naukowy ze względu na poszukiwanie nowych markerów rozwoju cukrzycy typu 2 i nowych wskaźników wyrównania glikemii, które mogłyby znaleźć zastosowanie w szczególności u osób z ograniczeniami w posługiwaniu się poziomem obecnie stosowanymi markerami (np. HbA1c).

Układ przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej jest klasyczny i posiada powszechnie akceptowalny układ. Praca obejmuje 199 stron oprawionego, jednostronnego wydruku komputerowego formatu A4. Składa się z 49-stronicowego Wstępu, 2-stronicowego Celu pracy, rozdziału „Materiał i metody” obejmującego 20 stron, opisu uzyskanych wyników przedstawionego na 30 stronach, 20-stronicowej dyskusji, wniosków przedstawionych na 2 stronach. Rozprawę zamyka obszerny wykaz cytowanego piśmiennictwa w liczbie 377 pozycji. Pracę uzupełnia wykaz stosowanych skrótów, wykaz tabel i rycin, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz załączniki dotyczące zgody Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badań. Praca została przedstawiona w sposób staranny, nie mam zastrzeżeń do jej kompozycji oraz szaty graficznej.

We wstępie przedłożonej dysertacji Doktorantka bardzo szczegółowo charakteryzuje zagadnienia dotyczące tematu rozprawy, niezbędne do zrozumienia uzyskanych wyników badań. Posługuje się informacjami zaczerpniętymi z najnowszych doniesień naukowych. Wstęp został podzielony na podrozdziały, wzbogacone o 14 rycin oraz 2 tabele. W pierwszych czterech podrozdziałach Autorka w merytoryczny i przystępny sposób przedstawia krótki rys historyczny badań nad cukrzycą, jej definicję oraz epidemiologię. W kolejnych Doktorantka omówiła biochemiczne procesy, których zaburzenie może prowadzić do rozwoju i progresji cukrzycy typu 2, a także scharakteryzowała przewlekłe powikłania cukrzycy i wskazała czynniki ryzyka tej choroby. Doktorantka w tym podrozdziale, zdaniem recenzenta, bardzo szczegółowo i ciekawie opisała powiązania między tkanką tłuszczową i czynnikami przez nią wydzielanymi a rozwojem insulinooporności i cukrzycy. Następnie scharakteryzowana została witamina D oraz opisany jej metabolizm w organizmie, działanie i powiązania z powstawaniem otyłości i rozwojem cukrzycy typu 2. Doktorantka we wstępie opisała również równowagę redox oraz udział enzymatycznych i nieenzymatycznych antyoksydantów w jej utrzymaniu. W przygotowaniu tego rozdziału Autorka wykazała się dużą znajomością piśmiennictwa (zacytowano w sumie 283 pozycje literaturowe).

Mam jednak kilka zastrzeżeń do tej bardzo obszernej części pracy. Przede wszystkim w podrozdziale 1.5. Patofizjologia cukrzycy typu 2 Doktorantka zastosowała zbyt duży „skrót myślowy” stwierdzając, że „...insulinooporność (...) przyczynia się do zmniejszonego wychwyty glukozy zarówno w mięśniach, wątrobie, jak i tkance tłuszczowej” (str. 26). Stwierdzenie to bezpośrednio zgadza się w przypadku mięśni i tkanki tłuszczowej, gdzie za wychwyt glukozy do tych tkanek odpowiada insulinozależny transporter glukozy GLUT4, natomiast w wątrobie działa GLUT2, a dzięki obecności glukokinazy, enzymu działającego niezależnie od stężenia insuliny we krwi, nadmiar glukozy jest wychwytywany i fosforylowany w hepatocytach. I chociaż insulina nie wpływa bezpośrednio na pobieranie glukozy do wątroby, to jednak wzmaga ona długoterminowe pobieranie jej i wprowadzanie do szlaku m.in. glikogenogenezy (Murray R. et al.: Biochemia Harpera. 2006). Podobnie, zbyt duże uogólnienie Autorka zastosowała na stronie 27 w podrozdziale 1.5.1. zatytułowanym „Insulinooporność”, gdzie stwierdza, że „... istnieją trzy główne pozatrzustkowe narządy wrażliwe na insulinę (...) mięśnie szkieletowe, tkanka tłuszczowa i wątroba”.

Również w tym podrozdziale pojawiły się dwie nazwy hormonu: glikokortykoidy oraz glukokortykoidy, co prawdopodobnie jest konsekwencją tłumaczenia tekstu angielskiego na język polski.

Większego uszczegółowienia wymagałoby również w podrozdziale 1.5.1.2. „Metabolizm glukozy w tkance tłuszczowej” stwierdzenie Autorki, że insulina działa na tkankę tłuszczową m.in. „indukując wychwyty wolnych kwasów tłuszczowych i glicerolu z krążenia”. Glicerol uwolniony do krążenia w procesie lipolizy jest wykorzystywany przez tkanki, w których występuje aktywna postać kinazy glicerolowej, dzięki której glicerol może być w postaci glicerolo-3-fosforanu włączony w szlaki metaboliczne. Jedną z tkanek, która zawiera bardzo duże ilości tego enzymu jest brunatna tkanka tłuszczowa, natomiast w tkance tłuszczowej tzw. „białej” enzym ten nie ulega ekspresji, więc glicerol nie może być wykorzystany jako źródło glicerolo-3-fosforanu (Murray R. et al.: Biochemia Harpera. 2006).

Podsumowując mogę stwierdzić, że informacje przedstawione we wstępie świadczą o odczycie i dużej wiedzy Doktorantki. Świadczą również o dobrej znajomości i umiejętności wykorzystania aktualnej literatury anglojęzycznej i umożliwiają zrozumienie istoty podjętej tematyki badań.

W kolejnym rozdziale (2. Cel pracy) Doktorantka jasno określa cel główny badań, a dodatkowe wskazanie celów szczegółowych precyzuje zakres prowadzonych eksperymentów. Jednakże w tym rozdziale brakuje jasno postawionej hipotezy badawczej wynikającej z krytycznej analizy piśmiennictwa naukowego.

Kolejny rozdział (3) zatytułowany: „Materiał i metodyka” składa się z podrozdziałów, w których w bardzo szczegółowy sposób scharakteryzowano badane grupy pacjentów oraz zastosowane metody antropometryczne, laboratoryjne i statystyczne. Wszystkie zastosowane laboratoryjne metody badawcze są obecnie powszechnie wykorzystywane w biologii molekularnej i zostały prawidłowo dobrane oraz opisane, co gwarantuje wiarygodność uzyskanych wyników. Umiejętność przeprowadzenia tak różnorodnych oznaczeń świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do dalszej pracy naukowej. Analiza statystyczna również została przeprowadzona i opisana prawidłowo. Dodatkowo rozdział ten został wzbogacony o przygotowane przez Doktorantkę schematy postępowania metodycznego przy wykonywaniu określonych badań, znacznie zwiększając tym samym przejrzystość tekstu. Rozdział ten został rzetelnie przygotowany, a informacje w nim zawarte stanowią doskonałe wprowadzenie czytelnika do śledzenia późniejszej dyskusji otrzymanych wyników.

Badania te zostały przeprowadzone za zgodą Lokalnej Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu (nr KB 452/2022), a skan zgody dołączony do przedstawionej Dysertacji.

Mam jednak kilka uwag do tej części pracy. Po pierwsze w podrozdziale 3.1. w kryteriach wykluczenia pacjenta z badania (str. 64) podano m.in. wiek powyżej 75 lat, natomiast na str. 88 Rozprawy doktorskiej, na ryc. 28 opisującej rozkład wieku w grupie pacjentów z cukrzycą typu 2 wyraźnie zaznaczono 1 osobę w wieku z przedziału 75 – 80 lat. Po drugie w podrozdziale 3.3.1. Autorka podała, że krew była pobierana do próbek z antykoagulantem (str. 66), co oznacza, że po odwirowaniu takich próbek uzyskano osocze do dalszych badań, natomiast Doktorantka używa terminu surowica, które to błędne sformułowanie stosowane jest następnie w tytułach kolejnych podrozdziałów i opisach metod oznaczania poszczególnych badanych związków.

Podsumowując tę część pracy należy podkreślić, że materiał i metodyka badań zostały właściwie dobrane i pozwoliły na rozwiązanie założonego problemu badawczego. Badania te wpisują się w nurt nowoczesnych osiągnięć biologii molekularnej, wymagają specjalistycznej aparatury, a umiejętność ich przeprowadzenia wskazuje na wysoki potencjał Doktorantki w obszarze działalności naukowej. Wszystkie procedury eksperymentalne zostały wyczerpująco opisane, a analiza statystyczna wyników została przeprowadzona prawidłowo.

Rozdział „Wyniki” zawiera dużo cennych danych, które stanowią bardzo dobry materiał do publikacji w znaczących czasopismach z Impact Factor. Tak szeroki wachlarz podjętych badań pozwolił uzyskać interesujące wyniki przedstawione na 29 starannie przygotowanych rycinach oraz w 15 tabelach. Autorka opisała je w sposób przejrzysty. Bardzo dobrym pomysłem było również podzielenie tego rozdziału na podrozdziały, w których skupiono się na omówieniu wyników poszczególnych aspektów pracy, co ułatwia śledzenie i analizowanie uzyskanych wyników. Na uwagę zasługuje ogrom pracy, jaką Doktorantka włożyła w pobór i przygotowanie próbek do badań, a następnie w wykonanie ogromnej ilości analiz laboratoryjnych.

Uwagi do tej części pracy dotyczą głównie błędów stylistycznych popełnionych przez Autorkę, do których należą m.in. błędne określenie odchyłeń od rozkładu normalnego jako „odchyłów” od rozkładu normalnego, kolokwialnego określenia chorych z cukrzycą jako „cukrzyków” (str. 90 – podpis tabeli 4; str. 93 – opis osi y na ryc. 32; str. 100 – podpis tabeli 13; str. 101 – podpis tabeli 14 i 15; str. 102 – tekst; str. 109 – opis kolumny w tabeli 17). Ponadto w tabeli 16 w ostatniej kolumnie (wartość parametru p) brakuje zaznaczenia literkami „t” i „W”, jakim testem wykonano analizę statystyczną, a tabela 18, wg recenzenta, w celu lepszej przejrzystości powinna być przygotowana mniejszą czcionką albo umieszczona w poziomie.

Podsumowując tę część pracy należy stwierdzić, że Doktorantka dobrze poradziła sobie z interpretacją tak wielu parametrów oraz zależności między nimi. Również sposób prezentowania wyników jest przejrzysty i ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z rezultatami przeprowadzonych analiz.

Według recenzenta najważniejszym merytorycznym kryterium oceny pracy doktorskiej jest umiejętność krytycznej oceny uzyskanych wyników badań własnych na tle dostępnego piśmiennictwa naukowego. Doktorantka tę część pracy w rozdziale „Dyskusja” przeprowadziła rzetelnie i na bardzo dobrym poziomie naukowym, a uzyskane wyniki prawidłowo zinterpretowała. Rozdział ten został podzielony na podrozdziały. To, co zasługuje na podkreślenie to fakt, że Autorka przeprowadziła bardzo szeroki panel badań, a w związku z tym, przedyskutowanie tak zróżnicowanych wyników nie było łatwe. Dlatego podział Dyskusji na poszczególne podrozdziały uważam za bardzo dobry pomysł. W dyskusji dokonano wyczerpującej interpretacji poczynionych spostrzeżeń przy jednoczesnym zachowaniu krytycyzmu naukowego. Przeprowadzona przez lek. Annę Piórkowską dyskusja na tle bogatego piśmiennictwa świadczy o bardzo dobrej znajomości analizowanej tematyki badawczej.

Ostatni akapit rozdziału Dyskusja stanowi jej podsumowanie i tak mógłby zostać zatytułowany.

Uzyskane wyniki posłużyły Doktorantce do wyciągnięcia 12 wniosków, które w pełni odpowiadają zadaniom badawczym postawionym w celu pracy.

Po wnioskach Autorka umieściła w rozprawie streszczenie w języku polskim i angielskim.

Cytowane piśmiennictwo obejmuje 377 pozycji literaturowych polsko- i anglojęzycznych, w większości z ostatnich kilku lat, chociaż Doktorantka doceniła także znaczące dla literatury

przedmiotu prace starsze. Prezentowane piśmiennictwo jest w pełni wykorzystane i cytowane w tekście dysertacji. Jednakże nie zostało opracowane według jednego schematu edytorskiego. Dodatkowo na str. 62 w pierwszym zdaniu zastosowano błędny styl cytowania publikacji.

Podsumowując, oceniana rozprawa doktorska lek. Anny Piórkowskiej ma dużą wartość poznawczą. Z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć o nielicznych błędach stylistycznych (np. „aktywacja aktywności”- str. 27; powtórzenie fragmentu tekstu- str. 35 i 58) i interpunkcyjnych, jak również stosowanych kolokwializmach, np. „o mniejszym kalibrze” – str 30 (o mniejszym znaczeniu). Błędy te nie mają jednak znaczenia merytorycznego i nie wpływają na wysoką ocenę wartości naukowej i merytorycznej pracy. Rozprawę doktorską oceniam w pełni pozytywnie. Doktorantka wykazała się dużą wiedzą teoretyczną oraz umiejętnością samodzielnego rozwiązania problemu naukowego.

Z pełnym przekonaniem uważam, że przedłożona rozprawa spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim w myśl ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789 ze zm.) i Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. z 2018 r, poz.261). **W oparciu o powyższą opinię mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie lek. Anny Piórkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Równocześnie wnoszę o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej.

Prof. dr hab. n. zdr Izabela Gutowska



