

Koronowo, 7.03.2022 r.

Dr hab. inż. Maria Bogdzińska *prof.nadzw. UTP*
Emerytowany pracownik
Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy
(Obecnie Politechnika Bydgoska)
Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pt. „Zmiany polimorficzne oraz wpływ stresorów środowiskowych i mechanizmów antyoksydacyjnych w zaćmie u ludzi” wykonanej przez mgr Katarzynę Rektor

Przedstawiona do recenzji rozprawa została wykonana pod kierunkiem dr hab. Piotra Kamińskiego, prof. UMK, kierownika Zakładu Ekologii i Ochrony Środowiska Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu. Badania zostały zrealizowane za zgodą Komisji Bioetycznej działającej przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy (KB 365/2015).

Zaćmę uznaje się za jedną z groźnych chorób prowadzących do całkowitej utraty wzroku u ludzi objawiającą się zmętnieniem soczewki oka, które może wywoływać szereg czynników. Do chwili obecnej nie udało się jednoznacznie określić etiologii tej choroby ze względu na bardzo złożone jej uwarunkowania. Uważa się, że za pogorszenie kondycji wzroku odpowiada zanieczyszczenie środowiska, które bezpośrednio wpływa na powstawanie nadmiaru reaktywnych form tlenu, nasilenie stresu oksydacyjnego i destabilizację równowagi antyoksydacyjnej organizmu. Jednocześnie zanieczyszczenie środowiska związkami chemicznymi o działaniu toksycznym może przyczyniać się do zwiększenia zaburzeń widzenia powodowanego zmianami w gałce ocznej.

W wyniku działania niekorzystnych warunków środowiskowych mogą wystąpić zmiany w materiale genetycznym człowieka, do których zaliczono przede wszystkim mutacje chromosomowe i genowe, anomalia RNA, anomalia białek oraz modyfikacje epigenetyczne. Zmiany te często stanowią podłoże genetyczne wielu chorób w tym także zaćmy.

Wobec tego zaćmę można traktować jako patologiczny stan gałki ocznej uwarunkowany wieloma czynnikami zarówno środowiskowymi jak i genetycznymi.

Problematyka podjęta przez mgr Katarzynę Rektor w rozprawie doktorskiej doskonale wpisuje się w nurt aktualnych badań nad poznaniem złożonych procesów prowadzących do zmętnienia soczewki oka - zaćmy u ludzi.

Celem prowadzonych badań przez mgr Katarzynę Rektor było określenie wpływu poziomu stężenia makroelementów, mikroelementów i metali toksycznych we krwi osób badanych a występowaniem u nich zaburzeń widzenia - zaćmy a także ocena wpływu niekorzystnych zmian warunkowanych stresem oksydacyjnym i związek między zaburzeniami obrony antyoksydacyjnej a występowaniem zaćmy. Kolejnym celem badań była analiza polimorfizmów genów *CRYAB*, *XRCC1* wariant *Arg399Gln*, *GSTT* oraz *GSTM*. i ich związków z zaburzeniami widzenia w zaćmie u badanych osób.

Podkreślenia wymaga fakt, że mgr Katarzyna Rektor prowadziła badania w oparciu o wyniki laboratoryjne (co wymagało poznania wielu złożonych metodyk oznaczania poszczególnych pierwiastków i związków a także metod badań molekularnych) oraz dane uzyskane z przeprowadzonych ankiet wśród osób objętych badaniem zarówno chorych jak i zdrowych (grupa kontrolna).

W ramach badań dokonano próby ustalenia zależności pomiędzy destabilizacją gospodarki pierwiastkowej, zaburzeniami bariery antyoksydacyjnej występowaniem polimorfizmów genetycznych oraz indywidualnego trybu życia a kształtowaniem się występowania zaćmy.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr Katarzyny Rektor jest obszernym opracowaniem, które łącznie liczy 191 stron. Składa się z następujących rozdziałów: Wstęp obejmujący także przegląd piśmiennictwa (29 stron), Cele pracy (1 strona), Materiał (1 strona), Metodyka (19 stron), Wyniki (wraz z rycinami, tabelami i wykresami) (60 stron), Dyskusja (18 stron), Wnioski (2 strony). Wykaz literatury zawiera 223 pozycje oraz 3 źródła internetowe rozmieszczone na 23 stronach. Ponadto, praca zawiera 1 stronę streszczenia w języku polskim i 3 strony streszczenia w języku angielskim obejmującym także wnioski. Dodatkowo, Autorka dołączyła wykaz stosowanych skrótów, abstrakt, wykaz tabel, wykaz rycin, zgodę Komisji Bioetycznej (aneks nr 3), wzór ankiety uczestnika badania naukowego

(aneks nr 1) oraz wzór deklaracji uczestnika badania naukowego (aneks nr 2).

Konstrukcja i struktura rozprawy są prawidłowe i odpowiadają wymaganiom stawianym pracom doktorskim.

Rozdział „Wstęp”, który jest jednocześnie przeglądem literatury został podzielony na siedem podrozdziałów, w których autorka konsekwentnie omawia kolejno zagadnienia dotyczące: budowy narządu wzroku, charakterystyki zaćmy i jej podstawowych typów, roli reaktywnych fonu tlenu w patofizjologii zaćmy, udziału stresu oksydacyjnego w zmętnieniu soczewki, roli enzymów antyoksydacyjnych, oddziaływaniu pierwiastków chemicznych na soczewkę oka oraz uwarunkowania genetyczne zaćmy. Mimo mnogości omawianych czynników rozdział jest czytelny a jego lektura pozwala na zapoznanie się ze złożonością czynników mających wpływ na wystąpienie zaćmy u ludzi.

W rozdziale „Cele pracy” autorka wyszczególnia sześć zamierzeń badawczych mających służyć określeniu zależności pomiędzy destabilizacją gospodarki pierwiastkowej, zaburzeniami bariery antyoksydacyjnej, występowaniem polimorfizmów genetycznych (częstości występowania wariantów polimorficznych genów *CRY AB*, *XRCCI* wariant *Arg399Gln*, *GSTT* oraz *GSTM*) oraz przybliżenie mechanizmów i zdolności reakcji organizmu w warunkach stresowych w powiązaniu z kondycją oka z zaćmą. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Autorka postanowiła określić zależności pomiędzy stężeniem wybranych pierwiastków chemicznych we krwi, efektywnością mechanizmów antyoksydacyjnych a występowaniem form polimorficznych analizowanych genów zarówno w grupie osób chorych jak i zdrowych. Odzwierciedla to szerokie spektrum badań mających na celu określenie etiologii zaćmy i zdefiniowanie mechanizmów blokujących jej powstanie.

Rozdział „Materiał” poświęcono charakterystyce materiału badawczego.

Kolejny rozdział „Metodyka” Autorka podzieliła na cztery podrozdziały, w których kolejno opisuje szczegółowo zastosowane metody badawcze i laboratoryjne. Bardzo wysoko oceniam zastosowane metody badawcze. Użycie tak dużej liczby metod badawczych dowodzi o szerokiej wiedzy oraz umiejętnościach mgr Rektor. Także przyjęte metody statystyczne nie budzą wątpliwości. W rozdziale tym Autorka zamieściła również zdjęcia otrzymane z rozdziałów elektroforetycznych analizowanych polimorfizmów genetycznych. Korzystniejsze byłoby zamieszczenie zdjęć w rozdziale „Wyniki” przy omawianiu tych polimorfizmów genetycznych.

Rozdział „Wyniki” podzielono na 8 podrozdziałów. Wyniki badań zostały zaprezentowane w 26 tabelach oraz na 56 rycinach. Autorka najpierw, w oparciu o uzyskane informacje z przeprowadzonych ankiet, charakteryzuje badane grupy osób (pacjenci zdrowi i chorzy z objawami zaćmy) pod względem socjodemograficznym (płci, wieku, wykształcenia, miejsca zamieszkania, BMI), stylu życia i posiadanych nałogów (stosowania diety, spożywania alkoholu, palenia tytoniu, zażywania witamin, stosowania suplementów diety),

narażenia w środowisku na czynniki szkodliwe (czynniki biologiczne, chemiczne, fizyczne) oraz odczuwanych dolegliwości (choroby narządu wzroku, choroby tarczycy, nowotworowe, miażdżyca, cukrzyca, nadciśnienie).

Następnie Autorka analizuje poziom mechanizmów anty oksydacyjnych nieenzymatycznych i aktywności białka stresowego oraz mechanizmów antyoksydacyjnych enzymatycznych i lipoperoksydacji (CAT, SOD, GPx, GR, GSH, MD A, CP).

Kolejny podrozdział poświęcony jest analizie stężenia pierwiastków chemicznych we krwi badanych osób zarówno chorych jak i zdrowych z podziałem na makroelementy (5), mikroelementy (18), pierwiastki toksyczne (5) - łącznie 28 pierwiastków. Następnie doktorantka poddaje analizie korelacje pomiędzy stężeniami badanych pierwiastków w krwi w obrębie osób zdrowych i chorych.

W kolejnym podrozdziale Autorka poddaje analizie korelacje pomiędzy parametrami antyoksydacyjnymi a stężeniem pierwiastków chemicznych w badanych grupach osób. Oddzielny podrozdział dotyczy wyników badań molekularnych - zaobserwowanych polimorfizmów genów *CRYAB*, *XRCC1* wariant *Arg399Gln*, *GSTT* oraz *GSTM* oraz struktury genetycznej w badanych locus w grupie osób zdrowych i chorych. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Autorka poszukuje korelacji pomiędzy zidentyfikowanymi polimorfizmami genetycznymi a badanymi parametrami krwi. Bardzo liczne wyniki zostały w pracy szczegółowo i prawidłowo przedstawione, co świadczy o głębokiej i rozległej wiedzy Autorki.

W podrozdziale „Podsumowanie wyników” Autorka odniosła się do postawionych celów pracy wskazując najważniejsze wyniki uzyskane w tym zakresie, które zawarła w 15 punktach.

W rozdziale „Dyskusja” podzielonego na cztery podrozdziały Autorka wyczerpująco uzasadniła wybór zastosowanych czynników mających znaczenie w kształtowaniu czynników mogących mieć wpływ na wystąpienie zaćmy u człowieka. W rozdziale tym Autorka konsekwentnie odniosła się do otrzymanych wyników z badań własnych w zakresie uwarunkowań środowiskowych, antyoksydacyjnych parametrów obronnych, istotności gospodarki pierwiastkowej i uwarunkowań genetycznych rozwoju zaćmy na tle literatury. W tym celu mgr Rektor powoływała się na liczne źródła literaturowe dotyczące badań zagranicznych i polskich. Autorka umiejętnie interpretowała na tle danych literaturowych otrzymane wyniki badań własnych. Podkreślenia wymaga fakt, że spośród cytowanych pozycji literatury większość stanowią prace opublikowane po roku 2010. Większość cytowanych źródeł to literatura anglojęzyczna (około 80%).

W rozdziale „Wnioski” Autorka stwierdziła, że gospodarka pierwiastkowa, mechanizmy obrony antyoksydacyjnej, aspekty genetyczne oraz indywidualny styl życia to czynniki mające wpływ na kondycję ludzkiego oka i mogą przyczyniać się do wystąpienia zaćmy. Stwierdzono także, że czynniki te współdziałają ze sobą o czym świadczą otrzymane korelacje.

Otrzymane przez Autorkę wyniki są bardzo interesujące i wskazują na potrzebę uwzględnienia wielu czynników w ocenie przyczyn powodujących zaburzenia widzenia u człowieka objawiającego się wystąpieniem zaćmy.

Doceniając wartość naukową pracy, mam jednak kilka drobnych uwag i sugestii, które powinny/mogą być uwzględnione przy przygotowaniu tekstu do druku.

1. W rozdziale „Metody” należy uzupełnić źródła literaturowe metod oznaczania GSH, MDA, ICP-MS, izolacji DNA (str. 46,48,51). Również brakuje informacji o analizie struktury genetycznej populacji i zastosowanym teście χ^2 .

2. W rozdziale „Wyniki” (str.1 14) Autorka określała zgodność rozkładu genotypów zgodnie z prawem Hardy-Weinberga a nie jak podano w pracy „genów”

3. W rozdziale „Podsumowanie wyników” na str. 119 w punkcie 15 Autorka wymieniła , że analizowała geny *GST*, *XRCCI* oraz *CRYAB*. Wydaje się, że należałoby dokładnie podać badane przez Autorkę polimorfizmy.

4. W streszczeniu (str. 139) w celu nr 4 powinno być „zmian polimorficznych”, a nie jak podała Autorka „zmian patofizjologicznych”. Natomiast na str. 141 aktywność katalazy a nie „karalazy”

5. Zgodnie z wykazem bibliografii brak w spisie dwóch pozycji cytowanych na str. 14 i 17.

Wymienione przeze mnie uwagi są natury redakcyjnej. Z tego względu mogą być łatwo poprawione w trakcie przygotowywania pracy do druku. Moim zdaniem dysertacja doktorska mgr Katarzyny Rektor pod względem wagi tematu, sposobu ujęcia, krytycznego przeglądu literatury, właściwie dobranego materiału, strony metodycznej, właściwej interpretacji wyników reprezentuje wysoki poziom naukowy.

Przedstawiając powyższe Radzie Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego w Zielonej Górze stwierdzam, że oceniana praca doktorska odpowiada w pełni wymaganiom określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. Ustaw nr 65 poz. 595) z późniejszymi zmianami w brzmieniu z dnia z dnia 15 września 2017 r. (Dz. U. 2017 r. poz. 1789.), zgodnie z Art. 175. 1. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę -

Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz.1669). Na tej podstawie wnoszę do Wysokiej Rady o dopuszczenie mgr Katarzyny Rektor do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na nowatorskie i kompleksowe badania dotyczące przyczyn zaburzeń widzenia u człowieka - zaćmy, zwłaszcza uwzględnienia bardzo licznych czynników środowiskowych, mechanizmów obrony antyoksydacyjnej, polimorfizmu genetycznego i wzajemnych zależności między nimi, wnoszę do Wysokiej Rady wniosek o wyróżnienie rozprawy.

Łopackińska