

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Anny Dobrzańskiej pt.:
„Wybrane czynniki zewnętrzne i wewnętrzne środowiska u ludzi ze zdiagnozowaną
retinopatią cukrzycową”

Pani magister Anna Dobrzańska podjęła starania o uzyskanie stopnia doktora na Wydziale Nauk Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego. Przedłożyła rozprawę doktorską, która została wykonana w Collegium Medicum w Bydgoszczy pod okiem promotora dr hab. Piotra Kamińskiego, prof. nadzw., doświadczonego, znanego i cenionego specjalisty z zakresu ekologii środowiskowej. W wyniku kilkuletnich badań powstało obszerne opracowanie, które jest podstawą ubiegania się o stopień doktora.

Pani magister Anna Dobrzańska w rozprawie doktorskiej analizuje wpływ wybranych zewnętrznych oddziaływań środowiska oraz czynników wnętrza organizmu w grupie osób dotkniętych retinopatią cukrzycową (DR) na tle ludzi zdrowych. Schorzenie to jest chorobą oczu, które może się rozwijać pod wpływem hiperglikemii i wysokiego ciśnienia w miarę postępowania cukrzycy. Nasila się wraz z wiekiem. Powoduje uszkodzenie naczyń krwionośnych oka, prowadzi do ich osłabienia i pęknięcia. Może skończyć się ślepotą. Według danych WHO w krajach zachodnich odsetek mieszkańców dotkniętych utratą wzroku z tego powodu sięga kilkunastu procent.

Podłoże retinopatii cukrzycowej, podobnie jak towarzyszącej jej cukrzycy, ma charakter wieloprzyczynowy i realizuje się na różnych szlakach metabolicznych organizmu. Na zachorowanie i progresję tego schorzenia oczu ma wpływ szereg czynników natury środowiskowej i genetycznej a także interakcje pomiędzy nimi. Zarówno degradacja środowiska naturalnego, jak i nieprawidłowy styl życia sprzyjają zachorowaniu. Nie bez znaczenia są predyspozycje genetyczne, które bezpośrednio, względnie we współdziałaniu ze środowiskiem, mogą przyczyniać się do powstawania tego powikłania. Jednym z głównych czynników ryzyka w rozwoju DR jest stres oksydacyjny, który inicjuje procesy patologiczne w oku, prowadząc do zmian w siatkówce. Poszerzają się naczynia krwionośne, tworzą się pojedyncze mikro tętniaki a

potem następują niewielkie wylewy. W dalszej kolejności mogą występować krwotoki, wysięki oraz niedrożność naczyń krwionośnych. W zaawansowanym stadium choroby pojawiają się rozległe wylewy. Pękają naczynia i tworzą się nowe ale coraz słabsze. Na skutek postępujących zmian dochodzi do niedokrwienia oraz rozwarstwienia siatkówki a w końcu może dojść do utraty wzroku.

Terapia DR jest możliwa po rozpoznaniu choroby a jej wyniki są zależne od jej przebiegu i fazy w jakiej jest zauważona. Zaawansowana postać choroby jest trudna do leczenia. Dlatego tak ważne są: profilaktyka i odpowiednio wcześniej postawiona diagnoza. Dotychczas wdrożono kilka różnych metod terapeutycznych, jednak kuracja nie jest prosta i wymaga od pacjenta zaangażowania, dyscypliny oraz systematyczności. W tym kontekście problematykę podjętą przez Panią mgr Annę Dobrzańską w Jej rozprawie doktorskiej należy uznać za aktualną i potrzebną, zarówno ze względów naukowych jak i praktycznych. Praca przyczynia się do lepszego poznania wpływu wybranych czynników, które mogą prowadzić do powikłań cukrzycowych w budowie oka.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr Anny Dobrzańskiej pod względem formalnym nie budzi zastrzeżeń. Jest obszernym opracowaniem, które liczy łącznie 330 stron, w tym 93 tabele - nie licząc aneksów, 64 ryciny i 10 fotografii. Charakteryzuje się tradycyjnym - w dobrym znaczeniu tego słowa - układem, właściwym rozprawom naukowym. Praca podzielona jest na następujące rozdziały: Wprowadzenie (49 stron), Cele pracy (jedna strona), Materiał i metody (34 strony), Wyniki (72 strony), Dyskusja (24 strony) Wnioski (jedna strona), Streszczenia w języku polskim i angielskim (7 stron), Bibliografia (24 strony) - zawierająca kilkaset pozycji piśmiennictwa. Struktura pracy jest przejrzysta i prawidłowa, odpowiadając wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim.

W rozdziale „Wprowadzenie” omówiono w sposób dość syntetyczny istotę DR, jej występowanie, etiologię oraz najważniejsze czynniki ryzyka a także metody diagnostyki i leczenia. Stosunkowo dużo miejsca zajmuje podrozdział „Wybrane jony metali i ich związki z retinopatią cukrzycową”, w którym uwzględniono aż 47 różnych pierwiastków, dzieląc je na makroelementy, mikroelementy, toksyczne metale ciężkie i metale ziem rzadkich, przy czym niektóre występują w śladowych ilościach. Brakuje uzasadnienia według jakich kryteriów dokonano tego podziału. Trzeba też zauważyć, że nie wszystkie opisywane pierwiastki są metalami. Opisy poszczególnych pierwiastków nie zawsze są ukierunkowane wyłącznie na ich związek z retinopatią cukrzycową.

Oprócz tego omówiono podstawowe mechanizmy obronne przed stresem oksydacyjnym w organizmie człowieka oraz rolę polimorfizmu dwóch genów *AGER* i *GST* w kontekście badanej jednostki chorobowej. W moim przekonaniu rozdział ten jest napisany zbyt obszernie. Można by go ująć zwięźle, pomijając zagadnienia niezwiązane bezpośrednio z tematem rozprawy, jak np. diagnostyka i metody leczenia DR czy skracając opisy poszczególnych pierwiastków. W pracy zacytowano wiele pozycji piśmiennictwa, przeważnie w języku angielskim, spośród których większość została opublikowana w ostatnich kilku latach.

Na tle dokonanego przeglądu piśmiennictwa Doktorantka sformułowała w osobnym rozdziale cele rozprawy doktorskiej, które rysują obraz koncepcji Jej badań. Są ambitne i świadczą o szerokim zakresie podjętej problematyki. Zabrakło w tym rozdziale postawienia konkretnych hipotez badawczych, które zwykle formułuje się zwięźle po przedstawieniu celu pracy.

Rozdział „Materiał i metody” jest zredagowany precyzyjnie i rzeczowo, choć trochę rozwlekłe (niepotrzebny jest np. na stronie 58 opis aparatu ICP-MS wykorzystany do oznaczenia stężenia pierwiastków czy szczegółowy opis metody izolowania DNA-strona 85). Został wzbogacony 6 fotografiami, 23 rycinami i 25 tabelami, co czyni go bardziej wiarygodnym i przejrzystym oraz świadczy o solidnym podejściu Doktorantki do udokumentowania zastosowanych metod oraz użytej aparatury, wykorzystanej do oznaczeń laboratoryjnych. Materiałem do badań były próbki krwi, pobrane od łącznie 148 osób: 84 z retinopatią cukrzycową i 64 zdrowych ochotników. Badana populacja była reprezentatywna pod względem liczbowym. Została ona wybrana, stosownie do realizacji zamierzonego celu badań i wystarczająco szczegółowo scharakteryzowana. Stosunek liczbowy płci w obrębie ludzi objętych badaniami różni się wyraźnie od teoretycznego. Zarówno w grupie osób chorych jak i zdrowych jest przewaga kobiet. Na uwagę zasługuje uzyskanie zgody właściwej komisji bioetycznej, co pozwala sądzić, że procedury doświadczalne zostały zaplanowane zgodnie z obowiązującymi standardami.

Ponadto materiałem do badań były informacje uzyskane w wyniku przeprowadzonej ankiety wśród objętych badaniami osób. Ankieta była anonimowa i dość rozbudowana. Oprócz danych ogólnych stawiała cały szereg pytań mających na celu poznanie stylu życia, stanu zdrowia oraz stopnia narażenia zawodowego badanych

osób. Dostarczyła wielu ważnych informacji, które hipotetycznie mogły wiązać się z DR. Uzupełniały one materiały empiryczne i stały się przedmiotem całościowego opracowania. Próbkę krwi i dane osobowe pozyskano, zachowując obowiązujące przepisy prawne i normy etyczne.

Zastosowane metody badań laboratoryjnych nie budzą zastrzeżeń. Zostały dobrane właściwie, stosownie do realizacji postawionych przed Doktorantką zadań. Odpowiadają najnowszym światowym standardom stosowanym w tego typu rozwiązaniach. Dokładnie opisano i udokumentowano procedury pobierania próbek krwi i oznaczeń laboratoryjnych. Przedstawiony w rozdziale „Materiał i metody” sposób gromadzenia informacji eksperymentalnych i ich opracowania jest prawidłowy. Badania laboratoryjne wykonano poprawnie za pomocą nowoczesnych metod. Oznaczono wiele różnych wskaźników w próbkach krwi. Oprócz stężenia licznych pierwiastków, określono cały szereg parametrów biochemicznych i genetycznych, stosując niekiedy dość złożone procedury. Obszar badań podjęty w rozprawie jest bardzo szeroki. Dość powiedzieć, że łącznie w różnych analizach uwzględniono kilkadziesiąt cech, co świadczy z jednej strony o kompleksowości badań, a z drugiej o pracowitości i wytrwałości Doktorantki.

Podrozdział „3.5. Metody analizy statystycznej” jest napisany zbyt ogólnie i skrótowo. W żaden sposób nie charakteryzuje ogromu danych liczbowych, które uzyskano w wyniku badań. Nie dostarcza informacji o sposobie opracowania statystycznego ani o testach zastosowanych do weryfikowania konkretnych hipotez. Dopiero studiując dalsze rozdziały można dowiedzieć się o szczegółach opracowania statystycznego, które są ważne przy interpretacji wyników badań. Tak np. nie podano jaki model analizy wariancji został użyty do opracowania statystycznego cech ilościowych.

Rezultaty badań mgr Anny Dobrzańskiej są interesujące, ponieważ dostarczają całego szeregu oryginalnych informacji o osobach chorych na DR na tle ludzi zdrowych. Zostały one przedstawione w rozdziale „Wyniki badań”, który jest najobszerniejszy. Zajmuje ponad kilkadziesiąt stron. Do tego trzeba jeszcze dodać dwa obszerne aneksy liczące łącznie prawie 100 stron, w których przedstawiono w tabelach charakterystykę statystyczną cech w zależności od polimorfizmów genetycznych. Na szczęście rozdział „Wyniki badań” został podzielony na podrozdziały, pozostaje więc łatwym do studiowania. Bogate rezultaty badań zebrano w licznych tabelach oraz

przedstawiono w formie graficznej na 25 rycinach, uzupełniając je komentarzami zamieszczonymi w tekście maszynopisu. Tabele są na ogół dobrze skonstruowane, obrazowo i jasno prezentują badane zagadnienia.

Rozdział „Wyniki badań” został zredagowany w sposób przystępny. Najwięcej uwagi poświęcono w nim charakterystyce statystycznej wyników oznaczeń laboratoryjnych, porównując je między osobami chorymi na DR i zdrowymi a także w wielu innych kombinacjach służących realizacji celów pracy. Przeprowadzono drobiazgową analizę współczynników korelacji pomiędzy badanymi cechami, poszukując najlepszego wskaźnika do diagnozowania osób chorych na DR lub o skłonnościach do tego schorzenia. Również szczegółowo analizowano rozkład wariancji badanych cech, uwzględniając stan zdrowia pacjentów i polimorfizm genetyczny.

Uwagi:

1. Rozdział jest napisany zbyt rozwlekłe. W wielu przypadkach te same dane liczbowe są przedstawione wielokrotnie: raz w tabeli, zaraz obok w sposób graficzny na rycinie i jeszcze przytoczone w komentarzu tekstowym. Nierzadko występują powtórzenia z poprzedniej części pracy.
2. Liczebności grupy kontrolnej (64 osoby) i z retinopatią (84 osoby) nieznacznie różnią się od liczebności tych grup podanych w tabelach wynikowych.
3. Na stronie 98 jest napisane że cyt.: „zaden pomiar dla stężeń pierwiastków toksycznych nie miał rozkładu normalnego w grupie z retinopatią i kontrolnej”, co w zasadzie wyklucza możliwość stosowania testów parametrycznych. Tymczasem w podrozdziale 4.6. zastosowano analizę wariancji do weryfikacji istotności statystycznej w obrębie Pb (strona 150 do 151) czy Cd (strona 154 do 156).
4. W tabelach 85 - 93 przedstawiających wyniki analizy wariancji w podrozdziale 4.6. podane są efekty weryfikacji istotności statystycznych dla dwóch źródeł zmienności: grupy i interakcji grupy X polimorfizm. Czy oznacza to, że w modelach analizy wariancji nie uwzględniano trzeciego źródła zmienności - czyli zróżnicowania pomiędzy polimorfizmami genetycznymi?
5. Tytuły tabel 43 do 64 są tak zawile, że aż niezrozumiałe. Wystarczy je uprościć na wzór sformułowań użytych w tytułach aneksów.

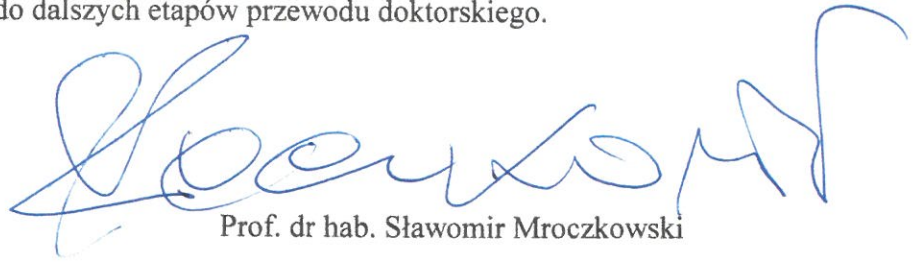
6. Niewłaściwie sformułowano tytuły rycin 56 do 63. Chyba chodzi o stężenie pierwiastków w zależności od...
7. Dane liczbowe zawarte w tabeli 85 strona 148 nie są takie same jak te podane w aneksach na stronach 226 i 273.

Doktorantka omówiła najważniejsze wyniki badań własnych w osobnym rozdziale - „Dyskusja”, przeprowadzając w sposób syntetyczny stosowne porównania na tle najnowszych pozycji piśmiennictwa. Podkreśliła rolę czynników ryzyka zachorowania na DR związanych ze stanem zdrowia i stylem życia. Omówiła wpływ pierwiastków chemicznych (makro- i mikroelementów a także pierwiastków toksycznych oraz ziem rzadkich) na zachorowanie oraz progresję retinopatii cukrzycowej. Wskazała na oddziaływanie stresu oksydacyjnego oraz uwarunkowań genetycznych na to schorzenie. Nie wiem dlaczego w ogóle nie dyskutowano w tym rozdziale wyników liczbowych uzyskanych na skutek zastosowania miar współzależności cech? W podrozdziale 5.5. dyskusji nie zacytowano ani jednej pozycji piśmiennictwa. Za dużo jest też powtórzeń z poprzedniego rozdziału. Pracę zamyka rozdział „Wnioski”, który ma w dużej części bardziej charakter syntetycznego podsumowania niż wniosków.

Przedstawione do oceny opracowanie chyba było redagowane w dużym pośpiechu, o czym świadczą chociażby literówki i niepoprawna interpunkcja a także błędy leksykalne - na przykład (strona 90, pierwszy wiersz podrozdziału) oraz ortograficzne - na przykład (strona 14). Mimo to uważam, że jest ono wartościowe, zarówno pod względem poznawczym jak i praktycznym. Wzbogaca bowiem wiedzę o wpływie wybranych czynników na procesy chorobotwórcze związane z powstawaniem DR. Dostarcza również ciekawych informacji o środowisku wewnętrznym badanych osób w postaci licznych wskaźników biochemicznych oraz markerów genetycznych oznaczonych we krwi. Wykonana analiza potwierdza wieloczynnikowe podłoże rozwoju DR. Pozwala lepiej poznać predyspozycje organizmu do zapoczątkowania zmian patofizjologicznych i ujawnienia się choroby, co jest ważne ze względu na prewencję i diagnostykę tego schorzenia.

Zauważone przez recenzenta niedoskonałości opracowania, nie umniejszają i jego wartości merytorycznej. Cele pracy zostały osiągnięte. Rozprawa wnosi nowe wartości poznawcze oraz nawiązuje do potrzeb praktyki lekarskiej. Stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Doceniam trud włożony w zaplanowanie badań, rzetelne wykonanie eksperymentu i staranne zgromadzenie wielu ciekawych danych.

Stwierdzam, że przedstawione do recenzji opracowanie Pani mgr Anny Dobrzańskiej spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przewidziane w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 r. poz. 1789 z późn. zm.).
Wnoszę o dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Sławomir Mroczkowski