

Prof. dr hab. n. med. Bożena Targońska-Stępniaak

Lublin, 01.08.2023 r.

Katedra i Klinika Reumatologii

i Układowych Chorób Tkanki Łącznej

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Recenzja rozprawy doktorskiej na stopień doktora nauk biologicznych

magistra Grzegorza Gality,

zatytułowanej

„Aspekty funkcjonalne, genetyczne i epigenetyczne naprawy DNA

w reumatoidalnym zapaleniu stawów

Functional, genetic and epigenetic aspects of DNA repair in rheumatoid arthritis”.

Promotorem pracy jest prof. dr hab. Tomasz Popławski,

Pracę wykonano w Katedrze Genetyki Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego

Instytut Biochemii Uniwersytetu Łódzkiego

Charakterystyka formalna rozprawy.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana na podstawie spójnego tematycznie cyklu czterech prac naukowych, w tym dwóch opublikowanych i jednej zaakceptowanej do publikacji (według deklaracji Doktoranta) w recenzowanych, anglojęzycznych czasopismach medycznych, jedna z prac nie została jeszcze opublikowana:

1. **Galita G**, Brzezińska O, Gulbas I, Sarnik J, Popławska M, Makowska J, Popławski T. Increased Sensitivity of PBMCs Isolated from Patients with Rheumatoid Arthritis to DNA Damaging Agents Is Connected with Inefficient DNA Repair. *J Clin Med.* 2020;9(4):988. Published 2020 Apr 1. doi:10.3390/jcm9040988
IF 4.242; IF 5-letni 5.098; punktacja MNiSW 140 pkt
2. **Galita G**, Sarnik J, Brzezińska O, Budlewski T, Dragan G, Popławska M, Majsterek I, Popławski T, Makowska J.S. Polymorphisms in DNA Repair Genes and Association with Rheumatoid Arthritis in a Pilot Study on a Central European Population. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):3804. Published 2023 Feb 14. doi:10.3390/ijms24043804
IF 6.208; IF 5-letni 6.628; punktacja MNiSW 140 pkt

3. **Galita G**, Sarnik J, Zając G, Brzezińska O, Budlewski T, Popławska M, Przybyłowska-Sygut K, Makowska S.J, Popławski T. The association between inefficient repair of oxidative DNA lesions and common polymorphisms of the key base excision repair genes as well as their expression levels in patients with Rheumatoid Arthritis. Archives of Medical Science. 2023. doi:10.5114/aoms/163133 – manuskrypt zaakceptowany IF 3.707; IF 5-letni 2.846; punktacja MNiSW 100 pkt
4. **Galita G**, Sarnik J, Brzezińska O, Budlewski T, Popławska M, Sakowski S, Dudek G, Majsterek I, Makowska J, Popławski T. The association between inefficient repair of DNA double strand breaks and common polymorphisms of the HRR and NHEJ repair genes in patients with Rheumatoid Arthritis – manuskrypt nieopublikowany

Autor dołączył do pracy doktorskiej egzemplarze prac oryginalnych, 3 opublikowanych i 1 przygotowanej do publikacji. We wszystkich tych pracach, wchodzących w skład spójnego tematycznie cyklu, Doktorant jest pierwszym autorem, współautorem prac jest między innymi promotor. Łączna punktacja trzech opublikowanych prac wchodzących w skład cyklu monotematycznego wynosi według czynnika oddziaływania IF=14.157; IF 5-letni=14.572 oraz według punktacji MNiSW 380 pkt, i zasługuje na uznanie.

Struktura przesłanej do recenzji rozprawy doktorskiej nie budzi zastrzeżeń. Na wstępie przedstawiono spis treści i informacje wprowadzające. Kolejną część stanowi spis publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, przedstawiono również pozostały dorobek naukowy Doktoranta. W dalszej kolejności zaprezentowano skrócony opis przeprowadzonych prac stanowiących podstawę rozprawy wraz z omówieniem wyników, a dalej streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spis literatury uzupełniającej. Następnie załączono publikacje będące podstawą rozprawy doktorskiej w postaci pełnotekstowych, opublikowanych prac oraz w formie przeddruku z czasopisma, jak również w postaci pracy przygotowanej do publikacji. Na zakończenie dołączono oświadczenia Doktoranta i współautorów o udziale w tworzeniu poszczególnych publikacji składających się na dysertację.

Charakterystyka merytoryczna.

Tytuł pracy jest adekwatny do zawartości merytorycznej rozprawy.

Informacje wprowadzające

W rozdziale pierwszym „Informacje wprowadzające”, w pierwszej części Doktorant przedstawia źródło finansowania pracy, podaje informację, że badania, które stały się

podstawą rozprawy doktorskiej zostały sfinansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki (NCN) „Aspekty funkcjonalne, genetyczne i epigenetyczne naprawy DNA w reumatoidalnym zapaleniu stawów”, przyznanego w ramach konkursu OPUS 13 nr 2017/25/B/NZ6/01358.

Podkreśla również, że praca została zrealizowana we współpracy z Kliniką Reumatologii oraz Zakładem Chemii i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

W drugiej części rozdziału Autor przedstawia dorobek naukowy, w tym wymienia publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej (omówione powyżej) oraz pozostały dorobek naukowy. Na pozostały dorobek naukowy Doktoranta składa się 18 publikacji pełnotekstowych, opublikowanych w latach 2017-2023 w recenzowanych, wysoko-punktowanych czasopismach. Sumaryczna punktacja przedstawionego dorobku naukowego jest bardzo wysoka, według punktacji MNiSW wynosi 2560 punktów oraz według IF 94.551 punkty. W tych publikacjach Doktorant jest jednym ze współautorów. Na dorobek naukowy składają się również doniesienia zjazdowe, łącznie jedenaście, które zostały zaprezentowane podczas kongresów międzynarodowych i konferencji krajowych. W siedmiu doniesieniach Doktorant jest pierwszym autorem.

Skrócony opis prowadzonych prac wraz z omówieniem wyników

W pierwszej części rozdziału, we „Wstępie” Autor przedstawia w sposób szczegółowy i konkretny problemy związane z reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS), rozpoczynając od podstawowych informacji, określenia charakteru choroby, danych epidemiologicznych. Doktorant omawia w sposób ciekawy i przejrzysty aktualny stan wiedzy na temat patogenezy RZS, rozwijając aspekty immunologiczne choroby, zwracając uwagę na zwiększone ryzyko rozwoju nowotworów złośliwych. Następnie Autor interesująco przedstawia czynniki, które mogą mieć wpływ na rozwój RZS. Omawia kolejno grupy czynników: genetyczne, hormonalne, środowiskowe i związane ze stylem życia. Szeroko i ciekawie przedstawia czynniki i zależności genetyczne, wskazuje na związek z zaburzeniami immunologicznymi w przebiegu choroby. Opisuje czynniki hormonalne i ich podwójne znaczenie w patogenezie RZS. Omawia czynniki środowiskowe wraz z paleniem tytoniu. Zwraca uwagę na znaczenie chorób przyzębia w rozwoju RZS. Dokładnie i ciekawie opisuje rolę stresu oksydacyjnego w przebiegu RZS. Na zakończenie tej części rozdziału Autor wprowadza informacje związane z odpowiedzią na uszkodzenie DNA (DDR) oraz znaczeniem DDR w rozwoju RZS. Autor wyjaśnia zasady funkcjonowania systemu DDR, opisuje szlaki uszkodzeń DNA i wyjaśnia ich znaczenie. Jest to nowoczesne podejście do patogenezy RZS, łączące podatność genetyczną oraz zwiększoną częstość występowania nowotworów.

Dlatego w opinii recenzenta, badania przedstawione w dysertacji są nowatorskie, uzasadnione i potrzebne biorąc pod uwagę nauki podstawowe, jak również kliniczny punkt widzenia. Treść tej części rozprawy jest interesująca, dobrze zaplanowana, wprowadza w problematykę dalszych części dysertacji oraz wskazuje na bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Doktoranta do podjęcia próby rozwiązania problemu naukowego.

Cel pracy został sformułowany precyzyjnie i jest spójny z tematem dysertacji oraz z tematami poszczególnych publikacji. Doktorant podkreśla, że cel pracy doktorskiej wpisuje się w globalny trend poszukiwania specyficznych markerów i ukierunkowanych terapii mających na celu skuteczne i szybkie rozpoznanie oraz efektywne leczenie RZS. Autor wymienia również kolejne etapy pracy, które zaplanowano aby zrealizować cel.

W trzeciej części rozdziału zatytułowanej „Materiały i metody” Autor przedstawia grupę chorych na RZS i osób zdrowych włączonych do badania. Podaje informację o uzyskaniu zgody Zakładowej Komisji Bioetycznej Uniwersytecie Medycznego w Łodzi na przeprowadzenie badań. Wymienia kryteria wykluczające z badań. Dokładnie opisuje proces pobierania próbek krwi od pacjentów i izolowania materiału do badań, a następnie złożony proces przeprowadzenia badań, szczegółowo opisuje parametry badane. Przedstawione informacje są wyczerpujące, świadczą o doskonałej znajomości Doktoranta na temat opisywanych metod badań. Szczegółowo przedstawiono również metody statystyczne zastosowane w celu analizy uzyskanych wyników.

W czwartej części rozdziału „Podsumowanie i wyniki” Autor omawia kolejno, dokładnie wyniki poszczególnych badań, które opisano szczegółowo w publikacjach stanowiących podstawę dysertacji. Doktorant przedstawia wyniki uzyskane w kolejnych etapach pracy: wyniki analizy wrażliwości komórek jednojądrowych krwi obwodowej na uszkodzenia DNA indukowane różnymi czynnikami; ocenę zmienności genetycznej w RZS w obrębie genów sytemu naprawy uszkodzeń DNA i efektywności naprawy; analizę szlaku naprawy przez wycinania zasad (BER) u pacjentów z RZS; szczegółową analizę dwóch szlaków związanych z naprawą pęknięć dwuniciowych.

Ostatnią część rozdziału stanowią „Wnioski”, sformułowane w sposób jasny, konkretny. Wnioski odpowiadają założonym celom rozprawy doktorskiej. Doktorant wyróżnił najważniejsze wyniki i przedstawił w postaci czterech wniosków

1. Komórki jednojądrowe krwi obwodowej izolowane od pacjentów z RZS wykazują wyższy poziom endogennych uszkodzeń DNA w porównaniu z osobami zdrowymi, są

wrażliwe na czynniki indukujące uszkodzenia DNA i charakteryzują się zmniejszoną efektywnością naprawy uszkodzeń DNA

2. Polimorfizmy pojedynczych nukleotydów w genach kodujących białka biorące udział w systemach naprawy DNA są związane z predyspozycją do RZS
3. Zmniejszona efektywność naprawy uszkodzeń DNA jest skorelowana z polimorfizmami pojedynczych nukleotydów w genach kodujących białka biorące udział w systemach naprawy DNA
4. Zaburzenia procesów odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA (DDR) w obejmują zmieniony profil ekspresyjny genów kodujących białka DDR oraz miR-155.

Uwagi recenzenta:

- w rozprawie nie przedstawiono wykazu skrótów stosowanych w pracy oraz rozwinięcia skrótów w oryginalnym brzmieniu (zwykle w języku angielskim), co bywa pomocne podczas czytania pracy
- w rozprawie występują anglicyzmy, pojęcia zapożyczone z języka angielskiego, na przykład „do propagacji”, „zinfiltrowana”. W pracy w języku polskim należy stosować określenia typowe dla języka polskiego
- w opinii recenzenta, zamiast określenia „pacjent z RZS” należy stosować określenie „chory na RZS”
- skróty zastosowane w tekście dysertacji powinny być używane konsekwentnie, a nie zamiennie z pełnymi określeniami
- wyniki badań omówiono w rozprawie postaci tekstu z przytoczonymi wynikami liczbowymi; bardziej czytelna byłaby forma tabel z najbardziej istotnymi wynikami badań

Streszczenia

Streszczenia są przejrzyste, pozwalają na dobre zorientowanie się w istocie pracy i uzyskanych wynikach.

Literatura uzupełniająca

Obejmuje 21 pozycji piśmiennictwa, kolejno cytowanych w treści rozprawy, prawidłowo dobranych pod względem merytorycznym.

Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej

W kolejnej części rozprawy przedstawiono prace opublikowane w czasopiśmie anglojęzycznych, składające się na dysertację. Dwie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały już opublikowane w recenzowanych czasopiśmie naukowych, jedna jest zaakceptowana do publikacji (według deklaracji Doktoranta), były one wcześniej poddane wnikliwej analizie przez niezależnych recenzentów oraz zostały przez nich pozytywnie ocenione. Dlatego wartość merytoryczna tych publikacji nie podlega dyskusji i dalszej ocenie. Czwarta praca przygotowywana do publikacji stanowi kontynuację badań, których wyniki zostały wcześniej opublikowane. Grupa badana i metodyka badań jest podobna do przedstawionych w poprzednich pracach. Wyniki są przedstawione w postaci dokładnych tabel i rycin. Wnioski są konkretne i jasne.

Oświadczenia współautorów

Na zakończenie rozprawy dołączono oświadczenia Doktoranta i współautorów o udziale w publikacjach. Określono rodzaj wniesionej pracy oraz procentowy udział współautorów w poszczególnych pracach, które składają się na dysertację. Udział Doktoranta w czterech pracach stanowiących podstawę dysertacji jest wyraźnie dominujący i wynosi od 61% do 76%.

Uwagi recenzenta:

- Doktorant nie załączył zgody wszystkich współautorów prac na wykorzystanie publikacji jako części rozprawy doktorskiej. W opinii recenzenta takie oświadczenia powinno zostać uzupełnione

Podsumowanie recenzji.

Uważam, że temat pracy doktorskiej jest bardzo aktualny, interesujący i istotny klinicznie. Dobór metod badawczych był właściwy. Doktorant prawidłowo przeprowadził analizę zebranych danych i dokonał krytycznej interpretacji wyników. Uwagi zawarte w recenzji nie wpływają na pozytywną merytoryczną ocenę pracy.

Całość wykonanych badań i opublikowanych prac oceniam bardzo wysoko, zostały wykonane w oparciu o profesjonalny, wysokiej klasy warsztat badawczy, z właściwą starannością i konsekwencją. Godny podkreślenia jest nowatorski charakter przedstawionych badań, dający szansę na wykorzystanie wyników badań w celu poszukiwania czynników patogenetycznych

RZS i ustalenia skutecznego leczenia. Jednocześnie zwraca uwagę ogromny dorobek naukowy Doktoranta, skoncentrowany wokół poszukiwania wpływu czynników genetycznych na patogenezę, przebieg i leczenie wielu chorób przewlekłych.

Oceniając całość pracy należy podkreślić edytorską staranność wykonania i poprawność językową, dzięki czemu czyta się ją z dużą przyjemnością. Dysertacja jest napisana dobrym językiem polskim, problematyka przedstawiona jest w sposób bardzo logiczny i konkretny, a jednocześnie przystępny dla czytelnika.

Wniosek końcowy: uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska magistra Grzegorza Gality, potwierdziła ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie i umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, jak również przedstawia oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Recenzowana praca doktorska odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom na stopień doktora w dyscyplinie nauki biologiczne.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późn.zm.).

W związku z nowatorskim charakterem zastosowanych metod i narzędzi badawczych oraz szerokim zakresem badań przeprowadzonych u chorych na RZS, uważam, że praca doktorska magistra Grzegorza Gality zasługuje na wyróżnienie.

W związku z tym zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne, o dopuszczenie magistra Grzegorza Gality do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Bożena Targońska-Stępniaik

Prof. dr hab. n. med. Bożena Targońska-Stępniaik

Prof. dr hab. n. med.
BOŻENA TARGOŃSKA-STĘPNIAK
Specjalista Chorób Wewnętrznych
Specjalista Reumatolog
2717661

Prof. dr hab. n. med.
BOŻENA TAROGÓRKA-STYPIŃSKA
Specjalista Chorób Wewnętrznych
Specjalista Reumatologii
23 1 86 1