

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek Aleksandry Zyguly
pt. „Ocena aktywności enzymów antyoksydacyjnych w ślinie i krwi kobiet w ciąży o
przebiegu prawidłowym i powiklanym”,
napisanej pod kierunkiem Prof. dr hab. n. med. Mirosława Wielgosia (promotor) i
Dr hab.n.med. Przemysława Kosińskiego (promotor pomocniczy)
wykonanej w I Katedrze i Klinice Położnictwa i Ginekologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**

Rozwój diagnostyki prenatalnej i medycyny płodowej pozwolił na wykrywanie wad we wczesnym etapie, podjęcie interwencji prenatalnej u płodów z niektórymi wadami lub skierowanie ciężarnej do ośrodka, w którym płód z wcześniej wykrytą wadą może być poddany terapii jeszcze w łonie matki lub w okresie okołoporodowym. Niestety, mimo znaczącego postępu w medycynie perinatalnej, nadal nie jesteśmy w stanie zapobiec wielu patologiom ciąży. W obliczu tego faktu wyzwaniem perinatologii jest poszukiwanie wczesnych biomarkerów najczęstszych patologii ciąży, celem wczesnego określenia ryzyka wystąpienia patologii i podjęcia działań interwencyjnych oraz takiej modyfikacji prowadzenia ciąży, aby uniknąć wtórnych następstw nieprawidłowości. Nadciśnienie indukowane ciążą, wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu oraz cukrzyca ciążowa to patologie ciąży, które wciąż stanowią zagrożenie dla kobiet ciężarnych, płodów i noworodków, a ich etiopatogeneza nadal nie jest ostatecznie poznana i pozostaje szeroko dyskutowana w literaturze naukowej. Postuluje się, że etiologia wymienionych powikłań ciąży jest wieloczynnikowa, a elementem kluczowym może być stres oksydacyjny. Wyjaśnienie roli stresu oksydacyjnego jako czynnika patogennego cukrzycy ciążowej oraz powikłań ciąży związanych z dysfunkcją łożyska (takich jak nadciśnienie indukowane ciążą oraz wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu) mogłoby umożliwić wyznaczenie nowych metod diagnostyczno-terapeutycznych.

W przebiegu ciąży fizjologicznej zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu odpowiada zwiększona aktywność układów antyoksydacyjnych. Przyjmuje się, że przetrwały, nie zrównoważony stres oksydacyjny jest jednym z czynników patologicznych związanych z rozwojem powikłań ciąży, takich jak wewnątrzmaciczne zahamowania wzrastania płodu, nadciśnienie tętnicze indukowane ciążą oraz cukrzyca ciążowa. Jedną z hipotez sugeruje, że stres oksydacyjny może być kluczowym czynnikiem patologicznym inicjującym wystąpienie wymienionych patologii ciąży.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska wpisuje się w tematykę intensywnie prowadzonych badań na świecie, dotyczących czynników patogenetycznych istotnych patologii ciąży. Cykl publikacji, stanowiący niniejszą rozprawę doktorską, obejmuje tematykę stresu oksydacyjnego w ciążach fizjologicznych oraz powikłanych. Doktorantka trafnie podjęła próbę oceny parametrów stresu oksydacyjnego i czynników antyoksydacyjnych w wymienionych patologiach ciąży.

Przedstawiona do oceny dysertacja jest zbiorem opublikowanych prac powiązanych tematycznie. Podczas przygotowywania pracy zachowano logiczną kolejność, w której praca pogładowa odpowiada części teoretycznej, a dwie publikacje oryginalne odzwierciedlają część badawczą rozprawy doktorskiej. Układ pracy jest przejrzysty i zgodny z wymaganiami dotyczącymi rozpraw doktorskich.

Dysertację rozpoczyna zamieszczony wykaz stosowanych skrótów i streszczenie w języku polskim i angielskim, gdzie autorka w sposób bardzo klarowny i zrozumiały przedstawiła założenia, metodykę oraz uzyskane wyniki i wnioski rozprawy doktorskiej. Następnie Doktorantka zaprezentowała wykaz publikacji, stanowiących rozprawę doktorską.

We wstępie Doktorantka w sposób wyczerpujący wprowadza w temat rozprawy. Szczegółowo został omówiony stres oksydacyjny i procesy antyoksydacyjne jako czynnik patogenetyczny ciąż powikłanych cukrzycą ciążową, nadciśnieniem indukowanym ciążą lub wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrastania płodu. Opisano kliniczne konsekwencje wybranych patologii ciąży i potencjalne możliwości diagnostyczno-terapeutyczne.

Pierwsza praca z cyklu jest pracą pogładową pt. „Saliva, hair, tears, and other biological materials obtained non-invasively for diagnosis in pregnancy: a literature review”. Stanowi ona wprowadzenie teoretyczne do cyklu oraz podsumowanie informacji na temat wykorzystania biomarkerów klinicznych uzyskanych metodą nieinwazyjną w diagnostyce schorzeń u kobiet ciężarnych.

Drugą z cyklu jest praca oryginalna pt. „Oxidative stress markers in saliva and plasma differ between diet-controlled and insulin-controlled gestational diabetes mellitus” - stanowi ona podsumowanie przeprowadzonego prospektywnie badania, w którym oceniono obecność stresu oksydacyjnego u kobiet z ciążą powikłaną GDM. Dotychczas nie przeprowadzano oceny stężenia enzymów antyoksydacyjnych i markerów stresu oksydacyjnego w ślinie w populacji kobiet z GDM. Na podstawie przeprowadzonych badań potwierdzono obecność stresu oksydacyjnego w grupie kobiet z GDM G2 oraz wykazano, że ślina stanowi odpowiedni alternatywny materiał do oznaczenia wykładników stresu oksydacyjnego.

Trzecia praca z cyklu jest pracą oryginalną pt. „Oxidative stress markers differ in two placental dysfunction pathologies: pregnancy induced hypertension and intrauterine growth restriction” - ocenia różnice w parametrach stresu oksydacyjnego we krwi oraz w ślinie u kobiet z ciążą powikłaną dysfunkcją łożyska objawiającą się PIH lub IUGR. Analiza wykładników stresu oksydacyjnego w ślinie w populacji kobiet ciężarnych z PIH i IUGR dotychczas nie była przeprowadzana. Na podstawie

wykonanych badań uzyskano potwierdzenie obecności stresu oksydacyjnego tylko w grupie kobiet z IUGR oraz wykazano, że ślina stanowi odpowiedni alternatywny materiał do oznaczenia wykładników stresu oksydacyjnego.

Niewątpliwie badania doktorantki mają charakter nowatorski. Poza konwencjonalnym materiałem do badania (krew pełna, osocze) oceniono stężenie parametrów stresu oksydacyjnego w ślinie. Dotychczas nie oceniano parametrów stresu oksydacyjnego w ślinie kobiet ciężarnych z powikłaniami takimi jak GDM, PIH lub IUGR. Z dotychczas opublikowanych opracowań naukowych wiadomo, że większość biomarkerów znajdujących się we krwi, obecnych jest również w ślinie oraz że istnieje korelacja pomiędzy stężeniem substancji występujących w ślinie, ze zmianami zachodzącymi we krwi. Niskie koszty ekonomiczne, nieinwazyjne, bezbolesne i łatwe technicznie pobranie, to niewątpliwe zalety wykorzystania śliny jako materiału do badań diagnostycznych. Badania naukowe Doktorantki i opublikowane wyniki bez wątpienia mają wysoką wartość kliniczną i unikatowy charakter, gdyż takie badania nie były dotychczas opublikowane.

Założenia i cel pracy sformułowano w sposób zrozumiały i logiczny, co umożliwiło w pełni jego realizację. Celem badań prezentowanej rozprawy doktorskiej była ocena parametrów stresu oksydacyjnego, jak również określenie przydatności ich oznaczenia we krwi oraz w ślinie pacjentek z ciężką powikłaną cukrzycą ciążową, nadciśnieniem indukowanym ciężką lub wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrastania płodu. Wykazanie obecności stresu oksydacyjnego u tych pacjentek może pozwolić na wyłonienie grupy najwyższego ryzyka, w której ściśle monitorowanie oraz intensyfikacja leczenia może umożliwić zredukowanie liczby najgroźniejszych powikłań.

W rozdziale „Wnioski” autorka przedstawia cztery wnioski, w których stwierdza, że parametry stresu oksydacyjnego obecne są u ciężarnych z GDM G2, natomiast nasilenie stresu oksydacyjnego jest najwyższe w przypadku IUGR w porównaniu z innymi patologiami ciąży, związanymi z dysfunkcją łożyska. Dwa kolejne wnioski mają swój potencjał kliniczny, gdyż wskazano, że stężenie ORAC w ślinie może być wykorzystywane jako marker ogólnoustrojowego stresu oksydacyjnego w grupie pacjentek w ciążach powikłanych GDM, PIH oraz IUGR. Ponadto ostatni wniosek, w którym podkreślono, że ślina stanowi odpowiedni materiał diagnostyczny do oceny stresu oksydacyjnego w ciążach powikłanych daje realną perspektywę wdrożenia badania do postępowania klinicznego w omawianych patologiach ciąży

Przedłożona do recenzji dysertacja została zrealizowana i jest przemyślaną oraz dobrze zaprojektowaną pracą i zawiera wszystkie wymagane elementy związane z rozprawą doktorską. Stanowi zbiór trzech publikacji, które zostały opublikowane w cenionych czasopismach naukowych, a łączny wskaźnik Impact Factor wyniósł 10,251 i 240 punktów MNiSW. Wyniki badań przedstawiono w publikacjach w sposób logiczny, rzetelny, przejrzysty i konsekwentny, co potwierdza umiejętność Doktorantki w projektowaniu i prowadzeniu prac badawczych.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na nieprawidłową definicję cukrzycy ciążowej (GDM). Doktorantka definiuje cukrzycę ciążową jako zaburzenie tolerancji węglowodanów, pojawiające się lub zdiagnozowane po raz pierwszy w ciąży.

Cukrzycę ciążową rozpoznajemy w 24-28 tygodniu ciąży, natomiast zaburzenie tolerancji węglowodanów, pojawiające się lub zdiagnozowane po raz pierwszy w ciąży jeszcze przed 24 tygodniem jest określane mianem cukrzycy w ciąży (zgodnie z Zaleceniami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego z 2020 roku).

Należałoby również dodać, że oprócz makrosomii i konsekwencji okołoporodowych, zaburzenia gospodarki węglowodanowej niosą za sobą zwiększone ryzyko wad wrodzonych u płodu. Dlatego tak ważne i kluczowe jest wczesne rozpoznanie nieprawidłowej glikemii i dążenie do prawidłowego wyrównania cukrzycy jako szeroko pojętego działania prewencyjnego nieprawidłowy rozwój płodu i przebieg ciąży. Tym bardziej, pragnę podkreślić wysoką wartość wyników badań przeprowadzonych przez Doktorantkę, które potencjalnie mogą stać się narzędziem w postępowaniu klinicznym, mającym na celu zminimalizowanie negatywnych skutków nieprawidłowego przebiegu ciąży.

Należy zauważyć, iż uzyskanie wyników badań wymagało od Autorki ogromnego wysiłku i pracowitości, co cechuje zastosowane metody badawcze. Prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach i z uwagi na wysoką łączną punktację cyklu publikacji, jak również wysoką wartość kliniczną przedstawionych wyników badań wnioskuję o wyróżnienie powyższej dysertacji.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa Pani Aleksandry Zyguły, pt. „Ocena aktywności enzymów antyoksydacyjnych w ślinie i krwi kobiet w ciąży o przebiegu prawidłowym i powikłanym” spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy 1 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 późniejszymi zmianami), w związku z art. 179 ust 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz 1669 z późn.zm.)

W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Aleksandry Zyguły do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Endokrynologii Ginekologicznej
i Ginekologii Wieku Rozwojowego

Dr hab. n. med. Monika Zbucka-Krętowska

Podpis recenzenta