Ocena dorobku naukowego dr n. med. w zakresie biologii medycznej Małgorzaty Knaś oraz osiągnięcia naukowego pt.: *„Zmiany biochemiczne w ślinie pacjentów z twardziną układową"*

1. Życiorys naukowo-dydaktyczny habilitantki

Dr n. biol. Małgorzata Knaś dyplom magistra farmacji uzyskała w 2003 roku na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku. W latach od 2002 do 2009 była zatrudniona jako asystent a następnie adiunkt w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej AM w Białymstoku. W latach od 2009 do 2013 była p.o. Kierownika Samodzielnej Pracowni Kosmetologii UM w Białymstoku, a od 2013 roku zatrudniona jest w Instytucie Ochrony Zdrowia Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej w Suwałkach.

Stopień naukowy doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej uzyskała w 2004 roku na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku na podstawie pracy *„Wpływ kwasu ursodeoksycholowego (UDCA) na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w wątrobie, nerkach i surowicy krwi szczurów narażonych na stres"*, której promotorem był prof. dr hab. Krzysztof Zwierz.

Dr n. biol. Małgorzata Knaś w 2009 roku uzyskała specjalności z farmacji aptecznej oraz w tym samym roku ukończyła studia podyplomowe z chemii kosmetycznej na Politechnice Warszawskiej. Uczestniczyła w 41 kursach krajowych z farmacji i kosmetologii. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego i Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, a w latach 2005-2009 była członkiem Polskiego Towarzystwa Hepatologicznego.

Jako pracownik dydaktyczny od 2002 roku prowadziła zajęcia dla studentów Farmacji Aptecznej, Analityki Medycznej, Dietetyki oraz kilka przedmiotów w ramach Kosmetologii. W latach od 2003 do 2005 była opiekunem studenckiego koła biochemicznego przy Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej AM w

Białymstoku (opublikowano wówczas 3 doniesienia zjazdowe) a w latach 2010-2013 studenckiego koła naukowego przy Samodzielnej Pracowni Kosmetologii UMB (opublikowano 22 doniesienia zjazdowe). Wygłaszała lub prezentowała w postaci plakatowej 25 wykładów i prezentacji na krajowych konferencjach naukowych. Była opiekunem 10 prac magisterskich oraz 29 licencjackich.

Za osiągnięcia naukowe i dydaktyczne była sześciokrotnie wyróżniana Nagrodą Zespołową Rektora UM w Białystoku. Już analiza życiorysu naukowo-dydaktycznego habilitantki dowodzi, że będąc z wykształcenia farmaceutką od początku interesowała się biochemią lekarską i prowadziła badania kliniczne i eksperymentalne dotyczące bardzo wielu patologii, co wymagało pracy zespołowej.

2. Ocena dorobku naukowego

Na dorobek naukowy dr n. biol. Małgorzaty Knaś z lat od 2002 do 2014 składa się 96 prac, w tym 70 oryginalnych, 25 poglądowych i 1 kazuistyczna. W 29 pracach (około 30%) była pierwszym autorem. Opublikowała 25 prac w czasopismach z listy filadelfijskiej- w tym takich periodykach o IF powyżej 2 jak *Oral Diseases, Cell Biochemistry and Biophysics, Clinical and Experimental Rheumatology, Clinical Biochemistry* oraz *Journal of Oral Pathology & Medicine*, przy czym tylko w jednym z nich jako pierwszy autor. Sumaryczny współczynnik wpływu dla wszystkich publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej wynosi **36,333,** w tym **7,246** za prace, w których była pierwszym autorem. Łączna liczba punktów ministerialnych za cały dorobek przedhabilitacyjny wynosi **850 pkt**, z czego **217** punktów przypada na prace, w których habilitantka była pierwszym autorem. Liczba cytowań prac doktor Małgorzaty Knaś wg bazy Web of Science wynosi **69,** a indeks Hirscha to **6.** Dorobek wzbogacają ponadto 3 publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism nieposiadających IF, współredakcja 1 skryptu dla studentów kosmetologii oraz 112 streszczeń ze zjazdów naukowych, w tym 5 zagranicznych. Podkreślić należy, że parametry bibliometryczne tego dorobku w pełni spełniają warunki do wszczęcie przewodu habilitacyjnego dla medycyny zabiegowej i dziedzin niskoimpaktowych wyrażone w uchwale Senatu 346/2011 Uniwersytety Medycznego w Łodzi.

Dorobek naukowy dr n. biol. Małgorzaty Knaś jest bardzo heterogenny i składa się z przynajmniej czterech cykli tematycznych:

a) Biochemia śliny w patologiach układowych- 20 prac (16 oryginalnych i 4 poglądowe; 5 prac z listy filadelfijskiej) to zbiór prac poświęconych między innymi aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie pacjentów z cukrzycą typu 1 i 2 oraz cukrzycą ciążową; aktywności peroksydazy ślinowej, lizozymu i sIgA oraz IgG u dzieci z cukrzycą; wpływowi nikotynizmu na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie w przebiegu cukrzycy typu 1, zmianom stężeń egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie, lizozymu i peroksydazy w reumatoidalnym zapaleniu stawów; współzmienności aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych śliny ze statusem immunologicznym w zakażeniu HIV;

b) Diagnostyka biochemiczna chorób układowych- 48 prac, głównie eksperymentalnych (39 oryginalnych i 9 poglądowych, w tym 14 z listy filadelfijskiej); cykl prac dotyczących między innymi metod uwalniania witaminy E z pochodnych glikozydowych w przebiegu raka jelita grubego i stwierdzono w nich wyższą ilość wolnego alfa-tokoferolu i p-nitrofenolu uwalnianych z O-glikozydowych substratów w homogenatach tkanek jelita grubego a O-glikozydy alfa-tokoferolu mogłyby być prolekami w profilaktyce raka jelita grubego; wpływu kwasu ursodeoksycholowego na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w modelu doświadczalnym alkoholowego i niealkoholowego stłuszczenia wątroby oraz stresu audiowizualnego (temat pracy doktorskiej); aktywności N-acetylo-beta-D- heksozoaminidazy (HEX) i jej izoenzymów w surowicy krwi w autoimmunologicznym zapaleniu wątroby i pierwotnej marskości wątroby; stężenia HEX w płynie stawowym u osób z reumatoidalnym zapaleniem stawów a gęstość fukozylacji determinanty antygenowej glikoprotein płynu stawowego istotnie różnicuje procesy zapalne od degeneracyjnych stawu kolanowego; izoenzymów HEX w surowicy i moczu osób z rakiem nerki oraz w zmienionej nowotworowo tkance nerki; oceny zagęszczenia komórek tucznych i intensywności angiogenezy w niedrobnokomórkowych rakach płuc; surowiczej aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w gruczolaku trzustki i ich roli

w diagnostyce, różnicowaniu i monitorowaniu leczenia nowotworów złośliwych; oceny aktywności HEX i jej izoform w nowotworach gruczołów ślinowych; aktywności prokoagulantu nowotworowego i stężenia TSH w różnicowaniu guzów tarczycy; oceny procesów katabolicznych glikoprotein, glikolipidów i proteoglikanów w surowicy osób z perlakiem i w jego tkance oraz aktywności enzymatycznej w polipach nosa oraz w przewlekłym zapaleniu migdałków; aktywności HEX w treści dwunastniczej chorych na giardiazę; aktywności izoenzymów HEX i jej izoform w laktacji; aktywności surowiczej mannozydazy i galaktozydazy w chorobie alkoholowej; zależności aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych od wieku;

c) Biochemia śliny w odniesieniu do patologii jamy ustnej oraz farmakoterapia w stomatologii- 11 prac (6 oryginalnych i 5 poglądowych oraz jedna w tym cyklu z dodatnim IF); ocena aktywności ślinowej HEX w przewlekłym zapaleniu przyzębia oraz wpływu antybiotyków oraz ozonoterapii na stężenie ślinowej HEX oraz beta-glukuronidazy; wpływ nikotynizmu na aktywność ślinowego izoenzymu HEX w przebiegu zapalenia przyzębia; ocena wybranych czynników odporności niespecyficznej (peroksydazy, lizozymu i laktoferyny) śliny niestymulowanej u niemowląt dzieci i młodzieży i odniesienie jej do aktywności procesu próchnicowego oraz liczy zachowanych zębów; znaczenie niemucynowych białek śliny w patologiach jamy ustnej oraz zasady antybiotykoterapii oraz leczenia bólu w stomatologii oraz zasady postępowania z dzieckiem i kobietą ciężarną w gabinecie stomatologicznym;

d) Kosmetologia- 10 prac (3 oryginalne, 6 poglądowych oraz 1 kazuistyczna) oraz współautorstwo skryptu dotyczącego fitokosmetologii oraz kosmetologii naturalnej; prace o wykorzystaniu w kosmetologii surowców roślinnych i ich oddziaływaniu na procesy starzenia, gojenia i dermatozy; terapii skojarzonej w leczeniu blizn potrądzikowych; remodelingu niezranionej skóry szczurów w modelu cukrzycy typu 1 i 2.

W moje opinii dorobek naukowy dr n. biol. Małgorzaty Knaś jest w pełni wystarczający do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w rozumieniu

znowelizowanego tekstu Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym. Podstawowe dane bibliometryczne (liczba punktów IF, liczba cytowań i wskaźnik Hirscha) wskazują na współautorstwo wartościowych publikacji naukowych. W wielu z nich habilitantka była pierwszym autorem, w pozostałych odgrywała zasadniczą rolę w przeprowadzaniu oznaczeń biochemicznych wielu płynów ustrojowych (śliny, surowicy, moczu, płynu stawowego, płynu dziąsłowego) oraz tkanek. Tym zapewne należy tłumaczyć bardzo eklektyczny tematycznie dorobek naukowy dotykający wielu specjalności medycznych. Podkreślić należy wysoki poziom metodyczny prac eksperymentalnych. Dorobek habilitantki przekonuje, że zdobyła ona niezbędne doświadczenie w planowaniu i prowadzeniu nowoczesnych badań biochemicznych w diagnostyce wielu chorób.

3. Ocena osiągnięcia naukowego

Do oceny przedłożono cykl 3 prac oryginalnych i 2 poglądowych pod zbiorczym tytułem *„Zmiany biochemiczne w ślinie pacjentów z twardziną układową"*. Dwie z nich zostały opublikowane w *Journal of Oral Pathology & Medicine* o łącznym IF 4,11, pozostałe w polskich czasopismach nieposiadających współczynnika wpływu. Łączna liczba punktów ministerialnych dla tych pięciu publikacji wynosi 81. W czterech pracach habilitantka jest pierwszym autorem, a w jednej drugim autorem. Według oświadczeń współautorów tych prac udział dr Knaś w pracach oryginalnych wynosił 60% i 50% w artykułach z IF oraz 60% w periodyku bez IF oraz 80% i 60% w pracach poglądowych. Zadziwiające jest jedno z oświadczeń o współautorstwie pracy opublikowanej w *Journal of Oral Pathology & Medicine* w 2013 roku, wg którego udział pierwszego autora wynosił 30%, drugiego (dr Knaś) 50% a pozostałych sześciu w sumie zaledwie 20% (sic!).

Zagadnienia stanowiące istotę prac oryginalnych to ocena enzymatycznych i nieenzymatycznych systemów antyoksydacyjnych śliny u osób z twardziną układową; ocena stężeń HEX, jej izoenzymów A i B oraz beta-glukuronidazy (GLU) w ślinie pacjentów z twardziną układową oraz stężeń lizozymu, laktoferyny, sIgA i aktywności peroksydazy w ślinie w typie ograniczonej i

układowej twardziny. Temat ten jest konsekwencją dotychczasowych zainteresować habilitantki- wykorzystania śliny niestymulowanej i stymulowanej jako bezinwazyjnie pobieranego materiału diagnostycznego dla oceny ewentualnych dysfunkcji ślinianek oraz konsekwencji klinicznych tych zaburzeń w jamie ustnej (różnice w występowaniu próchnicy) tym razem w odniesieniu do sklerodermii i jej obu odmian klinicznych. Jest to wątek nowatorski dla pełniejszego rozumienia całokształtu powikłań twardziny oraz zmian w jamie ustnej u tych pacjentów. Rola stresu oksydacyjnego w patogenezie twardziny to temat eksploatowany naukowo od niedawna, a podjęcie zagadnienia oceny równowagi ROS-mechanizmy antyoksydacyjne śliny szczególnie uważam za w pełni uzasadnione z poznawczego i klinicznego punktu widzenia.

Dwie prace poglądowe stanowią wprowadzenie w istotę enzymatologii śliny i stresu oksydacyjnego oraz antyoksydantów śliny a także ich znaczenia dla patologii jamy ustnej. Są to dość proste opracowania, wystarczające jednak dla zaspokojenia podstawowej wiedzy lekarzy praktyków interesujących się rolą śliny w patogenezie próchnicy, periodontopatii czy karcinogenezy w jamie ustnej.

Badania biochemiczne śliny opisane w trzech pracach oryginalnych prowadzono u pacjentów Kliniki Reumatologii oraz Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Materiał może nie był zbyt liczny (odpowiednio 40 i 35 kobiet z uogólnioną sklerodermią oraz 20 z postacią ograniczoną), ale wynikło to zapewne z dość rzadkiego występowania tej choroby autoimmunologicznej w populacji ogólnej. Jednak w przypadku dodatkowego wprowadzenia kryteriów podziału grupy badanej (np. o występowanie lub nie kserostomii prawdziwej) ostatecznie analizowane grupy były mało reprezentatywne. Za właściwe uważam przyjęte kryteria włączenia i wykluczenia z grupy badanej, dobór grup kontrolnych a także wykluczenie wtórnego zespołu Sjögrena, periodontopatii i kandydozy jamy ustnej jako klasycznych czynników zakłócających prowadzone obserwacje. Wątpliwości budzi jedynie brak wystarczającej informacji o leczeniu farmakologicznym w grupie badanej i możliwości zastosowaniu w nim leków wpływających na wydzielanie śliny (różnice w protokołach terapeutycznych). Na podkreślenie

zasługuje wykonanie szerokiego panelu badań diagnostycznych (serologicznych, histologicznych małych gruczołów ślinowych wargi, próby Schirmera). Zastosowano współczesną metodologię badań biochemicznych śliny mieszanej.

Wykazano istotne obniżenie sekrecji śliny w przebiegu sklerodermii układowej, tym głębsze im dłużej trwała choroba. Powodem tego zaburzenia było włóknienie gruczołów ślinowych. Miało to konsekwencje kliniczne w jamie ustnej polegające na wyższej intensywności próchnicy a także, co jest najbardziej interesujące, przesunięcie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej śliny w kierunku stresu oksydacyjnego w miarę wyczerpywania się wydolności systemów antyoksydacyjnych wraz z czasem trwania choroby. Wartość tych obserwacji oceniam wysoko, dotyczą one rzadko występującej sklerodermii, ale mogą zachodzić we wszystkich kolagenozach. Kontynuacją najwcześniejszych zainteresowań habilitantki jest oznaczenie w ślinie pacjentów ze sklerodermią egzoglikozydaz lizosomalnych. Stwierdzono istotny wzrost aktywności specyficznej HEXA, HEXB i GLU w ślinie niestymulowanej kobiet z twardziną układową, co wskazuje na zaawansowanie procesów przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej w śliniankach podżuchwowych. Może to odpowiadać za nasilenie degradacji glikokoniugatów tkanki gruczołowej i w konsekwencji za kserostomię. Możliwe jest także wczesne uszkodzenie przyusznic (bez zmian sekrecji śliny) w następstwie napływu granulocytów obojętnochłonnych odpowiedzialnych za nasilenie aktywności ślinowej beta-glukuronidazy. Wzrost aktywności ślinowych egzoglikozydoz lizosomalnych może także prowadzić do nasilenie próchnicy. Logicznym dopełnieniem cyklu prac dotyczących biochemii śliny w sklerodermii była ocena aktywność białek odporności nieswoistej (laktoferyny, lizozymu oraz peroksydazy) oraz IgA w obu podtypach klinicznych tej choroby, co również było pomysłem nowatorskim. Dowiedziono, że postać układowa w największym stopniu zmienia sekrecję białek immunomodulujących śliny niestymulowanej i stymulowanej. Postać ograniczona sklerodermii nie zmienia funkcji egzokrynnych przyusznic. Jednak obie postacie sklerodermii zmieniają wydzielanie ślinianek podżuchwowych i osłabiają ich funkcje antyoksydacyjne, co sprzyja nasileniu stresu oksydacyjnego w jamie ustnej. Wykazanie

odmiennego zachowania się ślinianek przyusznych i podżuchwowych w przebiegu obu postaci klinicznych sklerodermii poszerza wiedzę na temat powikłań obserwowanych w tej chorobie. Na tej podstawie sformułowano kliniczny wniosek o konieczności podawania substytutów sztucznej śliny oraz antyoksydantów w profilaktyce zmian w jamie ustnej w obu postaciach sklerodermii.

Podsumowując, moja ocena osiągnięcia naukowego dr n. biol. Małgorzaty Knaś jest pozytywna. Przedstawione publikacje oryginalne są udaną próbą poszerzenia wiedzy o zmianach w śliniankach w przebiegu twardziny na podstawie badań biochemicznych śliny a także wyjaśnienia symptomatologii tej choroby w jamie ustnej. Metodologia konstruowania badanych grup a także ocen sialobiochemicznych są poprawne. Najwyżej oceniam badanie ślinowego stresu oksydacyjnego. Model tych badań można powielać chociażby w odniesieniu do innych kolagenoz a także raka płaskonabłonkowego jamy ustnej.

4. Wniosek końcowy

Na podstawie przedłożonego dorobku naukowego dr n. biol. Małgorzaty Knaś oraz oceny osiągnięcia naukowego w postaci cyklu publikacji pt. *„Zmiany biochemiczne w ślinie pacjentów z twardziną układową"* stwierdzam, że wniosek o stopień naukowy doktora habilitowanego jest w pełni uprawniony. Kandydatka posiada kwalifikacje do samodzielnej pracy naukowej. Bogaty dorobek publikacyjny w piśmiennictwie międzynarodowym oraz częste cytowanie prac, w których habilitantka była współautorem dowodzą umiejętności wnoszenia nowatorskich wątków do rozważań dotyczących bardzo oddalonych od siebie patologii. Kandydatka udowodniła umiejętność pracy zespołowej, co we współczesnej medycynie jest właściwie normą i koniecznością. Nadszedł czas, aby stała się liderem takich interdyscyplinarnych zespołów, które na podstawie prostych i mało inwazyjnych badań mogą wnosić nowe i nie przyczynkarskie impulsy poznawcze, diagnostyczne i utylitarne dotyczące wielu chorób.

Uwzględniając wartość heterogennego dorobku naukowego oraz poznawcze walory ocenianego cyklu publikacji dr n. biol. Małgorzaty Knaś, rekomenduję wniosek Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Wrocław, dnia 6 listopada 2014

Prof. dr hab. Tomasz Konopka

Prof. dr hab. Tomasz Konopka
Wrocław, ul. Brossa 38/9
4473822 tel. 071 787 40 58