Dr hab. Barbara Kochańska prof. nadzw. GUMed
Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej
Gdański Uniwersytet Medyczny

Ocena

szczególnego osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego

dr n. med. Małgorzaty Knaś

Dr n. med. Małgorzata Knaś rozpoczęła pracę w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Białymstoku (obecnie Uniwersytet Medyczny w Białymstoku) jeszcze na studiach w 2002 roku, początkowo jako asystent stażysta (na ostatnich dwóch latach studiów), od 2004 roku pracowała na etacie asystenta, a od 2005 do 2009 na stanowisku adiunkta. W latach 2009 - 2013 pełniła funkcję p. o. kierownika Samodzielnej Pracowni Kosmetologii UMB. Od 2013 pracuje w Instytucie Ochrony Zdrowia Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej im. prof. Edwarda F. Szczepanika w Suwałkach.

Habilitantka stopień dr n. med. w zakresie biologii medycznej uzyskała w 2004 roku na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku (Tytuł rozprawy doktorskiej: „Wpływ kwasu ursodeoksycholowego (UDCA) na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w wątrobie, nerkach i surowicy krwi szczurów narażonych na stres").

Od 2003 roku, w ramach prowadzonej interdyscyplinarnej działalności naukowo-badawczej, dr Małgorzat Knaś, współpracowała m.in. z Zakładem Stomatologii Dziecięcej i Zakładem Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej, a od 2013 z Zakładem Stomatologii Zachowawczej UMB. Od 2003 roku współpracowała także z Profesorem Vyacheslav'em Buko z Instytutu Biochemii Narodowej Akademii Nauk w Grodnie (Białoruś) w ramach umowy bilateralnej pomiędzy Zakładem Biochemii Farmaceutycznej AMB a Instytutem Biochemii Narodowej Akademii Nauk w Grodnie. Współpraca ta dotyczyła zmian aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w różnych stanach chorobowych wątroby.

Od 2002 roku jest członkiem dwóch towarzystw naukowych: Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego oraz Polskiego Towarzystwa Biochemicznego. W latach 2005-2009 była członkiem Polskiego Towarzystwa Hepatologicznego.

I. OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE

1. Szczególne osiągnięcie naukowe obejmuje cykl publikacji przedstawionych przez habilitantkę pod ogólnym tytułem: „Zmiany biochemiczne w ślinie pacjentów z twardziną układową"

Cykl prac stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe Habilitantki składa się z **5 publikacji**, które ukazały się w recenzowanych czasopismach polskich i zagranicznych w latach 2006 - 2014 z łącznym **IF=3,74** i liczbą punktów **MNiSW=81**. Na cykl prac składają się 3 publikacje oryginalne **(IF=3,74; MNiSW=75)** oraz 2 prace poglądowe **(MNiSW=6)**. W czterech pracach, dr n. med. Małgorzata Knaś jest pierwszym autorem (udział procentowy habilitantki: 80%, 60%, 60%, 60%), w jednej pracy jest drugim autorem (udział procentowy habilitantki: 50%).

Badania prowadzone przez Habilitantkę dotyczyły zmian, które zachodzą w ślinie mieszanej spoczynkowej i stymulowanej osób chorych na twardzinę układową (TU), przewlekłą, wielonarządową chorobą tkanki łącznej, która dotyka 0,03-0,24% populacji, a której etiologia nie została do końca wyjaśniona. Główną rolę przypisuje się procesom immunologiczno-zapalnym, zmianom naczyniowym i włóknieniu. W ostatnich latach podkreśla się również udział stresu oksydacyjnego w patogenezie tej choroby. Proces chorobowy rozpoczyna się najczęściej w wieku około 35 - 65 lat i 3-

krotnie częściej dotyczy kobiet. Chorobę charakteryzuje występowanie dużej liczby autoprzeciwciał, uszkodzenie naczyń krwionośnych, jak również włóknienie skóry i narządów wewnętrznych. Proces włóknienia jest wyraźnie widoczny także w gruczołach wydzielania zewnętrznego m. in. w gruczołach ślinowych, co może wyraźnie wpływać na ich funkcje (czyli wydzielanie, skład i właściwości śliny), a tym samym na środowisko jamy ustnej i zachodzące w nim procesy. Ogólnym celem badań podjętych przez Habilitantkę była ocena funkcji gruczołów ślinowych w przebiegu tej choroby, poprzez określenie wybranych składników i właściwości śliny istotnych dla etiologii i diagnostyki choroby, a także oceny stopnia dysfunkcji gruczołów ślinowych w trakcie przebiegu tej choroby. W swoich badaniach Habilitantka brała pod uwagę czas trwania choroby, a także podtyp choroby (postać ograniczoną i rozlaną). Uwzględniano również niektóre parametry określające stan uzębienia (PUW) i stan przyzębia (GI, PPD) oraz stan błony śluzowej jamy ustnej. Istotne jest, że w badaniach uwzględniono także diagnostykę pacjentów w kierunku zespołu Sjogrena (w tym badanie histologiczne małych gruczołów ślinowych), co pozwoliło na wykluczenie zespołu Sjógrena u badanych pacjentów z twardziną układową. Było to istotne przy interpretowaniu wyników pod kątem oceny, czy rzeczywiście zaburzenie funkcjonowania gruczołów ślinowych jest związane z przebiegiem twardziny układowej, czy obserwowane zmiany w ślinie to efekt zespołu Sjógrena. Należy zaznaczyć, że prowadzone przez Habilitantkę badania nie dotyczyły śliny gruczołowej, a wyłącznie śliny mieszanej spoczynkowej i stymulowanej. Ocena wyników uzyskanych w ślinie mieszanej niestymulowanej, pozwalała w pewnym przybliżeniu na ocenę funkcji gruczołów podżuchwowych, zaś w ślinie mieszanej stymulowanej na ocenę funkcji gruczołów przyusznych. Badania śliny obejmowały następujące parametry: szybkość wydzielania (uznane kryterium dysfunkcji gruczołów ślinowych), pH śliny i pojemność buforową śliny. Oznaczano także poziom białka całkowitego i jego wydzielanie na minutę. Biorąc pod uwagę znaczenie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej śliny w utrzymaniu homeostazy w jamie ustnej, określano aktywność peroksydazy ślinowej, stężenie dysmutazy ponadtlenkowej 1, stężenie kwasu moczowego, wartość całkowitej zdolności antyoksydacyjnej śliny. W badaniach wzięto także pod uwagę wybrane egzoglikozydazy lizosomalne, których aktywność w stanie zdrowia jest niska, natomiast uważa się, że wzrost aktywności odzwierciedla zwiększoną syntezę/uwalnianie, związane z uszkodzeniem błon lizosomalnych komórek gruczołów ślinowych, w wyniku toczących się procesów zapalnych, zmian degeneracyjnych, czy transformacji tkanki gruczołowej w tkankę łączną. W ślinie oznaczano aktywności specyficzne N-acetylo-p-D-heksozoaminidazy (HEX), jej izoenzymów A i B (HEX-A, HEX-B) oraz p-glukuronidazy (GLU). W badaniach śliny uwzględniono także niektóre składniki śliny związane z jej odpornością swoistą i nieswoistą – oznaczono poziom lizozymu, laktoferyny i slgA. Wyniki badanych składników śliny przedstawiono w przeliczeniu na białko (tzw. wartość całkowita). Uzyskane wyniki badań odnoszono także do grupy kontrolnej, osób ogólnie zdrowych, dobranych pod względem płci i wieku. Tematyka badań miała charakter interdyscyplinarny i jest ważna zarówno ze względów poznawczych, jak również praktycznych, klinicznych.

Na szczególne osiągnięcie naukowe składają się następujące 3 prace oryginalne:

A. Zalewska, M. Knaś, E. Gińdzieńska-Sieśkiewicz, N. Waszkiewicz, A. Klimiuk, K. Litwin, S. Sierakowski, D. Waszkiel. Salivary antioxidants in patients with systemic sclerosis. J Oral Pathol Med; 2014, 43, 1, 61-68. (IF=1,870; MNiSW=35; udział procentowy Habilitantki – 50%). W pracy przedstawiono wyniki badań 35 pacjentów z twardziną układową o różnym stopniu zaawansowania i czasie trwania choroby. Wyniki odnoszono do 35 ogólnie zdrowych osób z grupy kontrolnej. Zbadano stan uzębienia i przyzębia (PUW, GI, PPD). Określono szybkość wydzielania śliny spoczynkowej i stymulowanej, wyodrębniając grupę 13 osób z obniżonym wydzielaniem śliny spoczynkowej (hiposaliwacja). Badanie histologiczne małych gruczołów ślinowych wykluczyło istnienie zespołu Sjógrena. Wykazało natomiast, że w biopsjach gruczołów ślinowych pobranych od pacjentów z twardziną układową ze stwierdzoną hiposaliwacją, istotnie częściej obserwowano rozmycie przewodów, zanik pęcherzyków i proces włóknienia w porównaniu do pacjentów z twardziną układową z

normalnym wydzielaniem śliny. Stwierdzono istotne różnice dotyczące aktywności peroksydazy ślinowej, stężenia dysmutazy ponadtlenkowej 1, stężenia kwasu moczowego i wartości całkowitej zdolności antyoksydacyjnej śliny (TAS) w ślinie stymulowanej i niestymulowanej pomiędzy chorymi z hiposaliwacją, chorymi z prawidłowym wydzielaniem śliny i osób z grupy kontrolnej. Wyniki badań parametrów śliny przedstawiono w przeliczeniu na białko (tzw. wartość całkowita). W porównaniu do pacjentów z prawidłowym wydzielaniem śliny, u osób z hiposaliwacją stwierdzono istotnie niższą aktywność specyficznej peroksydazy w ślinie niestymulowanej oraz istotny spadek wszystkich badanych antyoksydantów w ślinie stymulowanej. Stwierdzono brak istotnej zależności pomiędzy stanem przyzębia, a wynikami badań śliny, daje to możliwość wykluczenia wpływu stanu tkanek przyzębia na zachowanie się systemów antyoksydacyjnych w ślinie pacjentów z twardziną układową i pozwala na wykorzystanie uzyskanych wyników do oceny funkcjonowania gruczołów ślinowych. Wykazano istotną zależność pomiędzy czasem trwania choroby a wydzielaniem śliny niestymulowanej i stymulowanej w całej badanej populacji pacjentów z twardziną układową. Wyniki badań wydają się sugerować, że dysfunkcja gruczołów ślinowych może być związana ze stresem oksydacyjnym. Dysfunkcja gruczołów ślinowych, wyrażona redukcją wydzielanej śliny niestymulowanej zależy od czasu trwania choroby. Uzyskane wyniki sugerują, że w początkowych stadiach twardziny układowej enzymy antyoksydacyjne gruczołów ślinowych radzą sobie ze zwalczaniem wolnych rodników, co z pewnością ułatwia prawidłowe funkcjonowanie gruczołów ślinowych, obserwowane jako prawidłowe wydzielanie śliny stymulowanej i niestymulowanej. Z czasem trwania choroby wydolność systemów antyoksydacyjnych gruczołów ślinowych staje się niewystarczająca, co może skutkować obserwowanym istotnym zmniejszeniem wydzielania śliny stymulowanej i niestymulowanej.

M. Knaś, A. Zalewska, I. Daniszewska, D. Waszkiel. Wybrane enzymy śliny w przebiegu twardziny układowej. Dent Med Probl; 2014, 51, 1-9. (MNiSW=5; udział procentowy Habilitantki – 60%). Ważnym wskaźnikiem dysfunkcji gruczołów ślinowych w wielu chorobach ustrojowych są zmiany metabolizmu glikokoniugatów macierzy zewnątrzkomórkowej gruczołów ślinowych. Dużą grupą enzymów ślinowych uczestniczących w rozkładzie tych struktur są egzoglikozydazy lizosomalne, hydrolizujące łańcuchy oligocukrowe i glikozoaminoglikanowe. Enzymy te związane z procesami degradacji i odnowy elementów, zarówno komórkowych i pozakomórkowych. W ślinie mieszanej spoczynkowej i stymulowanej 40 kobiet z twardziną układową i 40 ogólnie zdrowych kobiet (kontrola), oznaczono szereg parametrów: szybkość wydzielania śliny, aktywności N-acetylo-beta-D- heksozoaminidazy (HEX), jej izoenzymów A i B (HEX-A, HEX-B) oraz beta-glukuronidazy (GLU), wydzielanie minutowe białka całkowitego, poziom pH i pojemność buforową. Do czynników wykluczających z udziału w badaniach należały choroby przyzębia, stan zapalnym błony śluzowej jamy ustnej, palenie tytoniu. Stwierdzono, że intensywność próchnicy (PUW) w całej populacji pacjentek z TU była istotnie wyższa. Wydzielanie śliny spoczynkowej było istotnie niższe w grupie pacjentek z TU niż w grupie kontrolnej, zaś wydzielanie śliny stymulowanej nie różniło się istotnie. Pojemność buforowa śliny niestymulowanej i stymulowanej była istotnie niższa w grupie pacjentek z TU. W ślinie spoczynkowej aktywności specyficzne HEX, HEX-A, HEX-B i GLU były istotnie wyższe pacjentek z twardziną układową, natomiast wydzielanie minutowe białka było istotnie niższe. W ślinie stymulowanej tylko aktywność specyficzna GLU była istotnie wyższa u pacjentek z TU. W ślinie spoczynkowej pacjentek zaobserwowano korelację ujemną między szybkością wydzielania śliny a aktywnością HEX-B, jak również pomiędzy wydzielaniem białka a aktywnością specyficzną GLU. Przedstawione wyniki sugerują, że obserwowana w ślinie spoczynkowej pacjentek z TU zwiększona aktywność specyficzna badanych egzoglikozydaz lizosomalnych, może przyczyniać się m.in. do zmniejszenia objętości wydzielanej śliny. Istotnie zwiększona aktywność specyficzna GLU w ślinie stymulowanej pacjentek z TU, w porównaniu do grupy kontrolnej, może być wskaźnikiem klinicznie bezobjawowego uszkodzenia gruczołów przyusznych w przebiegu TU.

M. Knaś, A. Zalewska, N. Waszkiewicz, J. Szulimowska, J. Dzięcioł, S. Sierakowski, D. Waszkiel. Salivary: flow and proteins of the innate and adaptive immunity in the limited and diffused systemic sclerosis. J Oral Pathol Med; 2014, 43; 521-529, (IF=1,870; MNiSW=35; udział procentowy Habilitantki 60%). Celem tych nowatorskich badań była ocena funkcji gruczołów ślinowych oraz ocena wydolności systemów obronnych śliny w zależności od podtypu choroby (postaci rozlanej i postaci ograniczonej). Badania objęły 20 pacjentów z postacią ograniczoną i 35 z postacią uogólnioną choroby oraz 55 ogólnie zdrowych osób. Z badań eliminowano osoby z nasilonymi zmianami patologicznymi w przyzębiu. Stwierdzono, że wskaźnik próchnicy PUW w obu grupach pacjentów była istotnie wyższy niż w grupie referencyjnej. W ślinie mieszanej niestymulowanej i stymulowanej, oznaczono szybkość wydzielania śliny, stężenie lizozymu, laktoferyny i slgA, aktywność peroksydazy oraz stężenie białka całkowitego. Wyniki przedstawiono w przeliczeniu na białko (tzw. wartość całkowita). W grupie pacjentów z postacią ograniczoną stwierdzono istotnie dłuższy czas trwania choroby i istotnie częstsze występowanie przeciwciał ACA. U żadnego pacjenta nie stwierdzono wtórnego zespołu Sjógrena. Wyniki badań wskazują, że wydzielanie śliny spoczynkowej nie różniło się istotnie w obu grupach, natomiast wydzielanie śliny stymulowanej było istotnie niższe u pacjentów z postacią rozlaną choroby. W obu grupach wydzielanie śliny spoczynkowej i stymulowanej było niższe niż w grupie kontrolnej. Uzyskane wyniki wskazywały, że twardzina układowa, bez względu na podtyp choroby, upośledzała funkcjonowanie systemów odpornościowych w jamie ustnej. Pomiar wydzielania śliny stymulowanej wskazywał na upośledzenie funkcji sekrecyjnej gruczołów przyusznych pacjentów z postacią rozlaną choroby, natomiast gruczoły przyuszne pacjentów z postacią ograniczoną choroby zachowały pełną zdolność sekrecyjną. W obu grupach pacjentów stwierdzono na podstawie oceny szybkości wydzielania i składu śliny niestymulowanej, że upośledzeniu ulegają niektóre istotne funkcje gruczołów podżuchwowych (m.in. sekrecyjna, antyoksydacyjna). Wskazuje to na potrzebę stosowania w obu grupach chorych preparatów sztucznej śliny i preparatów wspomagających systemy antyoksydacyjne.

Na szczególne osiągnięcie naukowe składają się także 2 prace poglądowe:

M. Knaś, M. Maciejczyk, D. Waszkiel, A. Zalewska. Oxidative stress and salivary antioxidants. Dent Med Probl; 2013, 50, 4, 461-466. (MNiSW=5; udział procentowy Habilitantki – 60%). W pracy przedstawiono (na podstawie przeglądu piśmiennictwa i obserwacji własnych), najistotniejsze informacje dotyczące stresu oksydacyjnego i jego aspektów. Omówiono także zagadnienie ślinowych przeciwutleniaczy. Wzięto pod uwagę zarówno enzymatyczne jak również nieenzymatyczne systemy antyoksydacyjne w ślinie. Stwierdzono, że równowaga oksydacyjno-antyoksydacyjna śliny odgrywa istotną rolę w utrzymaniu homeostazy w jamie ustnej.

M. Knaś, K. Karaszewska, J. G. Karaszewski. Enzymy śliny. Magazyn Stomatologiczny; 2006, 6, 173, 26-28. (MNiSW=1; udział procentowy Habilitantki – 80%). W pracy omówiono (na podstawie 17 pozycji piśmiennictwa) najważniejsze enzymy, których obecność wykryto w ślinie mieszanej. Wskazując na ich pochodzenie, opisano krótko reakcje w których biorą udział a także omówiono krótko ich znaczenie w fizjologii i patologii jamy ustnej. Najpełniej przedstawiono glikozydazy.

2. Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych (bez uwzględnienia publikacji, które zostały włączone do cyklu prac stanowiących osiągniecie naukowe)

Osiągnięcia naukowo-badawcze Habilitantki mają głównie charakter interdyscyplinarny, badania były prowadzone przeważnie w ramach dużych zespołów badawczych. Jak wynika z informacji zawartych w autoreferacie, były to zarówno badania kliniczne, jak też badania eksperymentalne, w tym prowadzone również w modelu zwierzęcym i hodowlach komórkowych.. Dorobek habilitantki pochodzi z wieloletniej współpracy m.in. ze stomatologami, endokrynologami, gastroenterologami oraz laryngologami, w związku z tym tematyka badań jest bardzo szeroka i zróżnicowana. Tylko w jednej pracy Habilitantka jest jedynym autorem i jest to praca poglądowa (MNiSW=6).

Dorobek przed uzyskaniem stopnia naukowego dr n. med. (2001 - 2003): Obejmuje łącznie 4 publikacje, w tym 2 prace oryginalne i 2 prace poglądowe (IF= 0,157; MNiSW=17). W 2 pracach Habilitantka była drugim autorem, w 1 pracy trzecim autorem, w 1 pracy piątym autorem (IF= 0,157; MNiSW=7).

Dorobek publikacyjny powstały w latach 2004 -2014 (po uzyskaniu stopnia naukowego dr n. med.):

- Dorobek składa się z 61 pełnotekstowych recenzowanych prac oryginalnych (MNiSW=681), w tym 22 prac opublikowanych w piśmiennictwie z IF (IF= 32,006; MNiSW=488) oraz 37 prac oryginalnych opublikowanych w piśmiennictwie bez IF (MNiSW=193). Spośród 61 prac, w 17 pracach Habilitantka jest pierwszym autorem (IF=5,147; MNiSW=154), w 13 pracach drugim (IF= 5,944; MNiSW=150), w 10 pracach jest trzecim autorem (IF= 2,014; MNiSW=75). Spośród 22 prac oryginalnych z IF, w 5 pracach jest pierwszym autorem (IF= 5,147; MNiSW=92), w 5 pracach drugim autorem (IF= 5,944; MNiSW=115), w 1 pracy jest trzecim autorem (IF= 2,014; MNiSW=75).
- Dorobek ten uzupełniają 3 recenzowane prace oryginalne opublikowane w suplementach czasopism polskich (MNiSW=16). W 2 pracach jest trzecim autorem, w jednej pracy czwartym autorem.
- Na dorobek publikacyjny składa się także 19 prac poglądowych/przeglądowych (MNiSW=62). Spośród opublikowanych 19 prac poglądowych, w 6 jest pierwszym autorem (MNiSW=23), w 7 pracach drugim autorem (MNiSW=16), w 4 pracach jest trzecim autorem (MNiSW=18).
- Dorobek publikacyjny uzupełnia 1 opis przypadku opublikowany w polskim czasopiśmie bez IF (MNiSW=6). W tej pracy jest drugim autorem.

Należy dodać, że jak wynika z bazy bibliograficznej UMB, w ostatnim okresie 2014 roku ukazały się jeszcze 2 publikacje oryginalne w czasopismach z IF (IF= 2,389; MNiSW=35), w których Habilitantka jest trzecim autorem. Prace te nie zostały ujęte w dorobku przedstawionym do oceny.

W recenzowanej obszernej działalności naukowej dr n. med. Małgorzaty Knaś, obejmującej okres przed i po uzyskaniu stopnia dr n. med., można wyodrębnić trzy główne kierunki tych wieloaspektowych badań, które jak już wspomniałam, w większości przypadków mają charakter badań interdyscyplinarnych i są pracami zespołowymi. Podejmowane zagadnienia mają nie tylko istotną wartość poznawczą, ale również mogą być wykorzystane w przyszłości w praktyce (np. w diagnostyce laboratoryjnej).

A) Część dorobku Habilitantki dotyczyła zmian ilościowych i jakościowych wybranych parametrów śliny mieszanej występujących w przebiegu różnych jednostek chorobowych (głównie cukrzycy - 16 prac, ale także chorób przyzębia - 5 prac, zakażenia HIV – 2 prace, reumatoidalnego zapalenia stawów – 2 prace). Badania dotyczyły także zmian występujących w ślinie w warunkach fizjologicznych (2 prace). Materiał badawczy stanowiła zarówno ślina mieszana, płyn dziąsłowy jak tkanki gruczołów ślinowych. Badania obejmowały zarówno dzieci, jak i osoby dorosłe. Prowadzone były także w modelu zwierzęcym. Uzyskane wyniki odnoszono również do stanu uzębienia jak i stosowanych używek (palenie tytoniu).

W aspekcie cukrzycy badano aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych, pojemność buforową śliny, stężenie białka całkowitego oraz heksozoamin i fukozy w ślinie pacjentów z cukrzycą typu 1, 2 i cukrzycą ciążową. Wartości badanych parametrów były istotnie wyższe w grupie osób chorych na cukrzycę. Podwyższenie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych może być dowodem zaburzeń równowagi katabolizmu i anabolizmu glikokoniugatów gruczołów ślinowych i dowodzić, że gruczoły ślinowe są uszkadzane w przebiegu cukrzycy. Znamienne podwyższenie aktywności specyficznej egzoglikozydaz lizosomalnych może skutkować przyspieszoną degradacją glikoprotein śliny i sprzyjać powstawaniu procesów patologicznych w jamie ustnej. Palenie papierosów przez chorych na cukrzycę typu 1, istotnie wpływało na

aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie. W ślinie dzieci z uzębieniem stałym, chorych na cukrzycę typu I, stwierdzono także wzrost stężenia lizozymu, sIgA, IgA, IgG w ślinie. Na podstawie oceny stanu ślinianek ludzkich w przebiegu cukrzycy tupu 1 potwierdzono m.in. istnienie zaburzeń mikrokrążenia w obrębie tkanki gruczołowej prowadzących do wzrostu oporu naczyniowego. Badając ślinianki zwierzęce w przebiegu insulinooporności stwierdzono m.in. istotne obniżenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego i ilości peroksydazy ślinowej.

U osób z przewlekłym zapaleniem przyzębia obserwowano istotnie wyższą aktywność specyficzną N-acetylo-beta-heksozoaminidazy w ślinie. Wzrost aktywności ślinowego izoenzymu A N-acetylo-beta-heksozoaminidazy może być uznany za marker zapalenia przyzębia u osób palących i nadużywających alkoholu. U osób z chorobą przyzębia stwierdzono istotne obniżenie aktywności beta-glukuronidazy w płynie dziąsłowym pod wpływem płukanki do jamy ustnej Dentosept[R]

Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych śliny a statusem immunologicznym pacjentów zakażonych wirusem HIV. Stwierdzono istotną korelację pomiędzy wzrostem aktywności HEX, HEX-A i beta-galaktozydazy a zmniejszeniem liczby limfocytów CD4+.

U pacjentów z zapaleniem reumatoidalnym stawów stwierdzono zmiany w szybkości wydzielania śliny oraz stężeniu lizozymu i peroksydazy. Stwierdzono, że istnieje możliwość wykorzystania oznaczeń aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w diagnostyce wczesnej dysfunkcji gruczołów ślinowych w przebiegu RZS jeszcze przed pojawieniem się zmniejszonego wydzielania śliny.

Prowadzono także badania w zakresie fizjologii jamy ustnej dzieci i młodzieży w wieku od 3 miesięcy do 18 lat, podzielonych na 4 grupy w zależności od stanu uzębienia: bezzębną, z uzębieniem mlecznym, mieszanym i stałym. Stwierdzono, że obserwowane w ślinie niestymulowanej zmiany dotyczące laktoferyny i lizozymu oraz aktywności specyficznej peroksydazy, mogą wpływać na rodzaj kolonizacji bakteryjnej jamy ustnej u dzieci i młodzieży.

Ogółem opublikowano 27 prac oryginalnych i poglądowych. Spośród 27 publikacji, w 7 pracach Habilitantka była pierwszym autorem, w 7 pracach była drugim autorem.

B) Innymi kierunkami zainteresowań naukowych Habilitantki była diagnostyka biochemiczna różnych chorób człowieka. W wieloaspektowych badaniach analizowano zmiany enzymatyczne, ilościowe i jakościowe w przebiegu różnych jednostek chorobowych.

Choroby wątroby: Badano m.in. wpływ kwasu ursodeoksycholowego (UDCA) na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w doświadczalnym modelu alkoholowego i niealkoholowego stłuszczenia wątroby oraz stresu audiowizualnego. Uzyskano wyniki sugerujące, że wątroba jest specyficznym miejscem działania UDCA, w której poprzez stabilizacje błon komórkowych chroni komórki przed lizą wywołaną stresem. Zdaniem autorów, oznaczanie HEX i jej izoenzymów w surowicy krwi może okazać się przydatne w diagnostyce niektórych chorób wątroby. Ponadto w cyklu prac poglądowych przedstawiono współczesne poglądy dotyczące biosyntezy i transportu kwasów żółciowych, hepatoprotekcyjnego działania kwasu ursodeoksycholowego, zastosowania sylimaryny w chorobach wątroby, patogenezy oraz leczenia pierwotnej marskości wątroby, encefalopatii wątrobowej, niealkoholowego stłuszczenia wątroby, niedotlenienie wątroby czy zastosowania beta-heksozoaminidazy w diagnostyce chorób wątroby. **Opublikowano ogółem 19 prac (w 6 pracach Habilitantka była pierwszym autorem, w 8 pracach drugim autorem).**

Choroby stawu kolanowego (uraz, reumatoidalne zapalenie stawu, artroza): Wyniki badań wskazują, że oznaczanie egzoglikozydaz lizosomalnych w płynie stawowym, może być wykorzystane do diagnostyki i określenia jakości płynu przy urazowo uszkodzonym więzadle w stawie. Również wysokie stężenie HEX w płynie stawowym u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów i artrozą w porównaniu do surowicy, sugeruje udział egzoglikozydaz lizosomalnych

w procesach degradacyjnych chrząstki stawowej. **Opublikowano ogółem 5 prac (w 2 pracach Habilitantka była czwartym autorem).**

Stany nowotworowe: Oznaczano m.in. aktywności HEX, jej izoform HEX-A i HEX-B , GLU, GAL , MAN i FUC w tkankach nowotworowych gruczołów ślinowych, w porównaniu do zdrowej tkanki gruczołów ślinowych. W tkance guza gruczołu ślinowego aktywność wszystkich badanych enzymów była znacznie wyższa w porównaniu do zdrowej tkanki gruczołów ślinowych. Stwierdzono także, że ocena HEX w surowicy krwi i śliny pacjentów z guzem ślinianki może być wykorzystywana w diagnostyce i monitorowaniu guzów ślinianek. **Opublikowano ogółem 9 prac (w 2 pracach Habilitantka była trzecim autorem).**

Wśród przedstawionych prac są m.in. prace dotyczące badań nad nowymi metodami uwalniania witaminy E z glikozydowych pochodnych w przebiegu raka jelita grubego. **Opublikowano ogółem 6 prac oryginalnych (w 2 pracach Habilitantka była pierwszym autorem, w jednej pracy drugim autorem).**

Choroby laryngologiczne: Badania egzoglikozydaz lizosomalnych w perlaku i surowicy krwi tych pacjentów, sugerują, że perlak powoduje reakcję ogólnoustrojową ze względu na wzrost aktywności HEX, GAL i GLUC w surowicy pacjenta. Stwierdzono istotny wzrost aktywności HEX w migdałkach podniebiennych z przewlekłym zapaleniem i z przerostem. **Opublikowano ogółem 3 prace oryginalne, w których Habilitantka była trzecim autorem.**

W dorobku Habilitantki znalazły się również pojedyncze publikacje dotyczące innych zagadnień z tego zakresu, **z których opublikowano ogółem 6 prac oryginalnych. W jednej pracy Habilitantka była pierwszym autorem, w 2 pracach drugim autorem.** Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono m.in. możliwość wykorzystania oznaczeń HEX w treści dwunastniczej, surowicy i moczu w nieinwazyjnym monitorowaniu giardiazy. Stwierdzono wzrost aktywności mannozydazy i galaktozydazy w surowicy osób leczonych z powodu nadużywania alkoholu w 5 dobie po epizodzie alkoholowym, co może świadczyć o poalkoholowych dysfunkcjach wątroby. Badano także egzoglikozydazy lizosomalne w hodowli komórkowej starzejącej się fizjologicznie i hodowli poddanej stresowi oksydacyjnemu. Wykazano, że aktywność egzoglikozydaz wzrastała wraz ze starzeniem się hodowli komórkowej, jak również że stres oksydacyjny był czynnikiem wzmacniającym starzenie się komórek. Badając aktywność HEX w procesie laktacji stwierdzono istotną korelację pomiędzy aktywnością HEX i jej izoenzymów z postępem laktacji.

C) Część prac dotyczyło wybranych zagadnień z zakresu szeroko pojętej kosmetologii. **Ogółem z tych zagadnień Habilitantka opublikowała ogółem 8 prac (w tym 1 pracę oryginalną, 4 poglądowe, 2 oparte na badaniach ankietowych i jeden opis przypadku). Spośród 8 prac w 3 była pierwszym autorem, a w 5 drugim autorem.** Trzy prace poglądowe dotyczyły składu chemicznego, działania farmakologicznego i możliwości wykorzystania surowców roślinnych (wąkroty azjatyckiej i skwalenu). Na podstawie jednego przypadku opisano skuteczność terapii skojarzonej w redukcji blizn potrądzikowych. W 2 pracach analizowano wiedzę studentów kosmetologii i farmacji UMB na temat ekspozycji organizmu człowieka na promieniowanie ultrafioletowe. Jedna praca oryginalna dotyczyła remodelingu niezranionej skóry szczurów w zwierzęcym modelu cukrzycy typu 1 i 2. Stwierdzono m.in., że zaburzenia w składzie macierzy pozakomórkowej skóry są podobne w cukrzycy typu 1 i 2, zaś zastosowanie insuliny w leczeniu cukrzycy korzystniej wpływ na homeostazę skóry.

3. Analiza cytowań (bez uwzględnienia autocytowań) obejmująca cały dorobek publikacyjny, łącznie z pracami włączonymi do rozprawy habilitacyjnej. W podsumowaniu całego dorobku publikacyjnego, należy dodać, że łączna liczba cytowań wszystkich prac, opublikowanych w latach 2001-2014 (bez uwzględnienia autocytowań), wynosi 69 według bazy *Web of Science* (Index Hirsha- 6).

4. Z obowiązku recenzenta chciałabym wspomnieć, że w trakcie analizy dorobku naukowego (uwzględniającej wszystkie załączone dokumenty i zawarte w nich informacje oraz wyliczenia, a także dane znajdujące się w bazie bibliograficznej UMB), dostrzeżono kilka nieścisłości dotyczących punktacji i notek bibliograficznych niektórych prac. W związku z

powyższym, w ocenie parametrycznej dorobku dr n. med. Małgorzaty Knaś, posłużono się także danymi bibliograficznymi pozyskanymi z dostępnych stron Biblioteki UMB. Powyższe uwagi nie umniejszają ogólnego dorobku naukowego i osiągnięć Habilitantki, który po niewielkim skorygowaniu punktów i notek bibliograficznych dokonanym w treści recenzji (również zgodnie z danymi pozyskanymi z Biblioteki UMB), pozostaje znaczący.

II. INNE ISTOTNE AKTYWNOŚCI NAUKOWE

Dr n. med. Małgorzata Knaś uczestniczyła czynnie w zjazdach i konferencjach naukowych Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Polskiego Towarzystwa Hepatologicznego i Polskiego Towarzystwa Biochemicznego. Uczestniczyła czynnie także w konferencjach zagranicznych organizowanych przez Białoruskie Towarzystwo Hepatologiczne i European Association for the Study of the Liver (EAST). Podczas konferencji i zjazdów naukowych wygłosiła 25 wykładów. Jest autorem lub współautorem 107 komunikatów zjazdowych krajowych i 5 zagranicznych. W dostarczonych materiałach nie znalazłam dokładniejszych informacji odnośnie tej części aktywności naukowej Habilitantki.

W latach 2003-2005 była opiekunem Koła Biochemicznego przy Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej UMB, a w latach 2010-2013 opiekunem studenckiego koła naukowego, działającego przy Samodzielnej Pracowni Kosmetologii UMB. Wyniki z interdyscyplinarnie prowadzonych badań, w których uczestniczyli także studenci, były przedstawione w 25 doniesieniach zjazdowych krajowych i 7 publikacjach (zaznaczono w nich współautorstwo studentów).

Dwukrotnie recenzowała prace dla prestiżowych czasopism naukowych (w 2008 roku dla Archives of Oral Biology i w 2013 roku dla Journal of Blood & Lymph). Obie prace zostały opublikowane.

W latach 2005 – 2012 Habilitantka otrzymała 7 zespołowych nagród naukowych Rektora UMB, w tym 4 nagrody I stopnia oraz 3 nagrody II stopnia.

III. DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA I DYDAKTYCZNA

Działalność organizacyjna: Dr n. med. Małgorzata Knaś w 2011 roku była współorganizatorem Konferencji Naukowej „Analytical Methods to Study Oxidative Damage, Antioxidants and Drugs". W 2012 roku współorganizowała Ogólnopolską Konferencję Naukowo-Szkoleniową „Dermokosmetyki pod lupą farmaceuty". W 2013 roku była współorganizatorem XXII Naukowego Zjazdu Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego „Farmacja-Nauka-Społeczeństwo". Uczestniczyła także w organizacji VIII Podlaskiego Festiwalu Nauki i Sztuki w Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku (2010). Od 2007 roku prowadziła szkolenia skierowane do lekarzy dentystów, które dotyczyły m.in. stosowania leków recepturowych, przeciwbólowych i racjonalnego wdrażania antybiotykoterapii i chemioterapii.

Działalność dydaktyczna: W Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej AMB prowadziła ćwiczenia i seminaria dla studentów różnych lat z kierunków Farmacji Aptecznej, Analityki Medycznej, Dietetyki. Prowadziła również zajęcia na kierunku Kosmetologii UMB. Stworzyła programy nauczania dla 8 przedmiotów na kierunku Kosmetologia. Była opiekunem 10 prac magisterskich i 29 prac licencjackich. W 2012 roku była współautorem podręcznika „Fitokosmetologia. Wykłady z fitokosmetologii, fitokosmetyki i kosmetologii naturalnej", który został nagrodzony przez Rektora UMB, nagrodą dydaktyczną III stopnia zespołową.

WNIOSEK

Po zapoznaniu się z cyklem publikacji, stanowiącym naukowe osiągnięcie i będące podstawą do ubiegania się o habilitację, a także z pozostałym dorobkiem naukowym, oraz działalnością dydaktyczną i organizacyjną dr n. med. Małgorzaty Knaś stwierdzam, że spełnia ona wymogi ustawowe stawiane kandydatom do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych.

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie dr n. med. Małgorzaty Knaś do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Barbara Wochna