

Prof. dr hab. Agnieszka Marczak,  
Katedra Biofizyki Medycznej,  
Instytut Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego  
ul. Pomorska 141/143  
90-236 Łódź

Łódź, 16 listopada 2020 r

## Ocena

### rozprawy doktorskiej lek. Sylwii Wenclewskiej pt: „*Wpływ witaminy D na poziom uszkodzeń DNA i wybrane parametry metaboliczne u osób w wieku powyżej 45 roku życia*”

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska została wykonana w Klinice Chorób Wewnętrznych Diabetologii i Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem Pani dr hab. n med. Agnieszki Śliwińskiej. Praca jest usytuowana w obszarze badań dotyczących witaminy D i skupia się na ocenie wpływu suplementacji witaminą D na poziom wybranych parametrów przemian glukozy i lipidów oraz uszkodzenia DNA w grupie osób powyżej 45 roku życia z zaburzeniami metabolicznymi. Temat jest jak najbardziej aktualny i niezwykle ciekawy. Niedobory witaminy D, pierwotnie kojarzone tylko z występowaniem krzywicy czy osteoporozy, obecnie są brane pod uwagę także w etiologii przewlekłych chorób metabolicznych, takich jak otyłość czy cukrzyca typu 2, a doniesienia ostatnich lat sugerują dużą rolę suplementacji witaminą D w zapobieganiu chorobom sercowo-naczyniowym, czy w redukcji czynników ryzyka zespołu metabolicznego. Z uwagi na plejotropowe działanie witaminy D, cenne wydają się więc wszystkie badania mające na celu wykazanie możliwości jej zastosowania w udoskonalaniu metod leczenia chorób cywilizacyjnych XXI wieku. Praca Pani Sylwii Wenclewskiej jak najbardziej wpisuje się w ten nurt.

Rozprawa ma typowy układ, zgodny z wymogami stawianymi pracom doktorskim. Napisana jest w formie liczącego 95 stron manuskryptu i składa się z rozdziałów, takich jak: *wykaz skrótów i oznaczeń, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo*. Ponadto rozprawa zawiera 12 rycin i 10 tabel, które zostały zestawione w rozdziale: *Wykaz rycin i tabel*. Całość uzupełniają streszczenia w języku polskim

i angielskim. Praca napisana jest zwięźle i rzeczowo, poprawnym językiem, więc czyta się ją bardzo dobrze.

**Wstęp** doskonale wprowadza w temat dysertacji, a zawarty w nim rozdział pt. „*Historia odkrycia witaminy D*” w bardzo ciekawy sposób pokazuje jakich odległych czasów sięgają pierwsze obserwacje podkreślające znaczącą dla organizmu rolę witaminy D. Wydawać by się mogło, że przez kilka wieków badań już wszystko w tym zakresie zostało odkryte, ale nadal jeszcze, o czym świadczy przedłożona praca doktorska, jest wiele możliwości nowych zastosowań dla tego leku. Przytoczone przez doktorantkę dane epidemiologiczne na temat niedoborów witaminy D u ludzi są niepokojące. Wskazują one, że bardzo duży odsetek dorosłej części społeczeństwa polskiego wymaga profilaktycznej suplementacji, co dowodzi, że podjęty w dysertacji problem jest niezwykle ważny nie tylko z poznawczego punktu widzenia, ale w szczególności z uwagi na potencjalne zastosowanie praktyczne. Dużą część wstępu doktorantka poświęciła szczegółowemu wyjaśnieniu związku niedoboru witaminy D z chorobami metabolicznymi, w tym jej udziału w patogenezie cukrzycy typu 2, co pozwoliło Jej wyjaśnić cele pracy i uzasadnić wybór badanych parametrów metabolicznych. Opisy uzupełnione są trafnymi rycinami, które znakomicie ułatwiają zrozumienie treści.

Doktorantka za **cel pracy** postawiła sobie ocenę wpływu witaminy D na wybrane parametry metaboliczne, w tym profil lipidowy, parametry homeostazy glukozy (FPG, HbA1c), BMI, wskaźniki insulinooporności (HOMA-IR, stosunek TG / HDL) oraz poziom endogennych i oksydacyjnych uszkodzeń DNA po trzymiesięcznej suplementacji 2000 IU witaminy D / dzień. Cel ten został jasno określony i rozbity na trzy cele szczegółowe, wśród których jest także zasadnicze pytanie, czy zastosowana suplementacja będzie wystarczająca, aby osiągnąć prawidłowy poziom tej witaminy (mierzony stężeniem 25(OH)D) w surowicy krwi.

Rozdział **materiały i metody** rozpoczyna się opisem planu badania, w którym jasno przedstawiona jest grupa badawcza, grupa referencyjna, określone są powody wykluczeń i wszystkie inne ważne dla późniejszych analiz wyjaśnienia. Zgodnie z wymogami dla badań prowadzonych z udziałem ludzi, znajduje się informacja o stosownych zgodach komisji bioetycznej oraz o zgodności podejmowanych działań z zasadami Dobrej Praktyki Klinicznej i deklaracją Helsińską. Także wybór okresu w którym stosowano suplementację (od 1 października do 31 grudnia) jest zasadny, z uwagi na największe niedobory następczości w tym okresie. Doktorantka zastosowała kilka nowoczesnych metod biologii molekularnej do

oznaczenia badanych parametrów, w tym test elektrochemiluminescencyjny, metodę immuno-chemiluminescencyjną z zastosowaniem przeciwciał, oznaczenia spektrofotometryczne, enzymatyczny test kolorymetryczny oraz metodę kometową do oceny uszkodzeń DNA. Najdokładniej opisana została technika służąca detekcji uszkodzeń DNA (test kometowy). Pozostałe metody są jedynie wymienione. W przyszłości moim zdaniem, w tego typu opracowaniach naukowych, warto byłoby podać przynajmniej zasadę działania każdej z metod lub odnośnik literaturowy. Nawet jeśli są to standardowe metody analityczne, wykonane z użyciem standardowych analizatorów biochemicznych, o czym pisze doktorantka, to podstawy merytoryczne tych oznaczeń warto przytaczać.

Rozdział wyniki jest przygotowany przejrzysto, z dobrze dobranymi wykresami i tabelami ilustrującymi otrzymane wyniki, które nie pozostawiają wątpliwości, które z określonych różnic są istotne statystycznie. Wyliczona i zestawiona w kilku tabelach korelacja pomiędzy kluczowymi parametrami, niewątpliwie pomaga w ocenie realnego wpływu witaminy D na kontrolę metaboliczną cukrzycy. Te zestawienia uważam za bardzo cenne.

W kolejnym rozdziale pojawia się bardzo dobrze przeprowadzona i przemyślana **Dyskusja**. Doktorantka logicznie wiąże swoje obserwacje z aktualnym piśmiennictwem – zacytowane w tym rozdziale pozycje literaturowe niemal w 100% pochodzą z okresu ostatnich 10 lat. Autorka powołuje się tu na wyniki metaanaliz, co także świadczy o jej umiejętności wykorzystywania tej nowoczesnej metody badawczej. Na podkreślenie zasługuje fakt, że doktorantka do swoich badań podchodzi bardzo krytycznie, zwraca uwagę na pewne słabe strony podjętych badań, co świadczy o dojrzałym podejściu do wnioskowania. Ostatecznie doktorantka w rozdziale 7 przedstawia kilka wniosków ze swoich badań. W mojej opinii jest to jednak tylko podsumowanie obserwacji z poszczególnych eksperymentów i odpowiedź na pytania postawione w rozdziale cele szczegółowe. Natomiast właściwy wniosek, będący rzeczywiście ukoronowaniem pracy, znalazłam dopiero w rozdziale streszczenie, gdzie autorka napisała w końcowym zdaniu, cyt: „wyniki mojego badania potwierdzają sugestię, że witamina D, poprzez redukcję stresu oksydacyjnego i poprawę profilu metabolicznego, może zmniejszyć insulinooporność i poprawić kontrolę związanych z nią chorób”. Ten wniosek moim zdaniem znakomicie podkreśla wagę badań podjętych przez doktorantkę i wskazuje na możliwość wykorzystania poczynionych obserwacji dotyczących suplementacji witaminą D w profilaktyce i leczeniu. Autorka w pracy

powołuje się na 282 pozycje literaturowe, ułożone w kolejności pojawiania się w tekście, w większości są to oryginalne prace anglojęzyczne, opublikowane w czasopismach o wysokim IF.

Autorka nie ustrzegła się pewnych błędów, które jednak nie wpływają na moją bardzo dobrą ocenę merytoryczną pracy. Z obowiązku recenzenta chciałabym jednak zwrócić uwagę na kilka zauważonych nieścisłości, co być może w przyszłości pozwoli doktorantce ich uniknąć. W kilku miejscach pojawiają się niespójności w stosowanym nazewnictwie. Np. na str. 6 jest mowa o receptorze retinoidowym (ang. *Retinoid X receptor*) podczas gdy na str. 13 ten sam receptor jest nazwany ang. *retinoic X receptor*, a w nazwie polskiej pojawia się określenie „receptor retinoidalny”. Taka niekonsekwencja może spowodować, że czytelnik poczuje się zdezorientowany. Jeśli jest kilka prawidłowych określeń na dany receptor czy związek, warto w spisie skrótów podać wszystkie jego określenia lub, jeśli decydujemy się tylko na jedno objaśnienie, to starajmy się konsekwentnie używać go w całym tekście. Ta niekonsekwencja widoczna jest też ogólnie w całym rozdziale „Wykaz skrótów i oznaczeń”, w którym czasami pojawia się tylko polskie rozwinięcie skrótu, czasami tylko angielskie, a czasami tłumaczenie polskie nie odpowiada angielskiemu np. ang. *chemiluminescent immunoassay* jest przetłumaczone jako „test chemiluminescencyjny” z pominięciem członu odnoszącego się do oznaczeń immunologicznych. Podobnie np. NHEJ – ang. *non-homologous end joining*, w dokładnym tłumaczeniu oznacza „łączenie niehomologicznych końców” a nie „Naprawa DNA poprzez łączenie niehomologicznych końców”. Przy kilku pozycjach literaturowych w rozdziale piśmiennictwo, brakuje także pełnych danych bibliograficznych. Powyższe uwagi mają charakter porządkujący i nie wpływają na moją wysoką ocenę pracy.

### **Wniosek końcowy**

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek. Sylwii Wenclewskiej pt: „Wpływ witaminy D na poziom uszkodzeń DNA i wybrane parametry metaboliczne u osób w wieku powyżej 45 roku życia” ma dużą wartość poznawczą i niewątpliwie wzbogaca naszą wiedzę na temat możliwości wspomagania leczenia chorych z cukrzycą typu 2 z wykorzystaniem suplementacji witaminą D. Praca zawiera elementy nowości naukowej, a także dowodzi umiejętności Doktorantki w zakresie planowania i przeprowadzenia badań naukowych oraz interpretacji uzyskanych wyników. Doktorantka wykazała się także bardzo dobrą znajomością literatury przedmiotu.

Stwierdzam, że praca spełnia wszystkie warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz.U.2003 nr 65, poz 595 z późn.zm.).

Z pełnym przekonaniem zwracam się do Rady Nauk Medycznych Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie Pani lek. Sylwii Wenclewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej. W uzasadnieniu pragnę podkreślić, że wyniki przedstawione w niniejszej pracy doktorskiej zostały już opublikowane w *International Journal of Molecular Sciences*, czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania (IF = 4,65), znajdującym się na liście JCR oraz na liście czasopism punktowanych MNiSW (liczba punktów 140 pkt). Artykuł ten pomimo tego iż został opublikowany dopiero rok temu zyskał już kilka cytowań, co potwierdza istotność badań Doktorantki i wskazuje na zainteresowanie tymi badaniami przez różne ośrodki naukowe na świecie. Dodatkowo za wyróżnieniem przemawia aplikacyjny charakter badań przedstawionych w niniejszej rozprawie doktorskiej.

załączam wyrazy szacunku

*A. Marczak*

Prof. dr hab. Agnieszka Marczak