Bydgoszcz, 21 stycznia 2022

prof. dr hab. Jerzy K. Garbacz
jugarbacz@wp.pl
tel. 601320529

Recenzja
Rozprawy doktorskiej mgr. **Jakuba Szyllera**
pt.: „Wpływ hiperbarii na ekspresję wybranych białek szoku cieplnego i syntazy tlenku azotu we krwi nurków"

Pionier eksploracji podwodnych, Jacques-Yves Cousteau przewidział, że przebywanie pod wodą przerodzi się z potrzeby zdobycia pokarmu lub surowców takich jak gąbki czy perły w konieczność związaną z zapewnieniem rozwoju cywilizacyjnego. Z upływem lat i rozwojem naukowo-technicznym, technika oraz cele nurkowania ulegały rozszerzeniu i zmianie. Wczesne techniki nurkowania, w tym najprostsza, gdzie nurek wstrzymuje oddech, czy też nurkowanie z użyciem dzwonu nurkowego zostały wyparte przez zastosowanie specjalistycznego kombinezonu. Dzięki temu nurkowie mogli schodzić na większe głębokości i przebywać pod wodą dłużej. Od momentu opracowania i udoskonalenia akwalungu, od lat 40-tych XX wieku obniżyły się koszty oraz przeszkody logistyczne związane z nurkowaniem. Pozwoliło to na spopularyzowanie koncepcji nurkowania sportowego oraz zintensyfikowane zostało również nurkowanie w ramach działalności komercyjnych czy też wojskowych. Paradoksalnie w kontekście rozwoju technicznego to organizm człowieka staje się najsłabszym elementem w trakcie nurkowania. Każdy rodzaj nurkowania związany jest z wystawianiem organizmu na działanie nienaturalnego środowiska hiperbarycznego. Prowadzi do wzrostu rozpuszczalności gazów, w tym tlenu oraz azotu, we krwi oraz w tkankach. Ten aspekt ekspozycji hiperbarycznej z jednej strony znalazł zastosowanie w leczeniu niektórych stanów patologicznych związanych z nurkowaniem (np. choroby dekompresyjnej), jak i chorób z tym niezwiązanych, np. zatrucia tlenkiem węgla, zgorzeli gazowej czy leczeniu trudno gojących się ran. Z drugiej jednak strony przebywanie w środowisku hiperbarycznym pociąga za sobą duże niebezpieczeństwo chociażby w kontekście wspominanej choroby dekompresyjnej, ale także odległe następstwa takie jak schorzenia neurologiczne czy jałowa martwica kości. Szczególnie odległe następstwa są dużym zagrożeniem, ponieważ pojawiają się pomimo przestrzegania zasad prawidłowej dekompresji i często stanowią patologie o niewyjaśnionym dotychczas mechanizmie, którego

podłoże wydaje się mieć wytłumaczenie dopiero na poziomie molekularnym. Tym właśnie aspektem zajął się mgr Jakub Szyller w przedstawionej do recenzji dysertacji. Autor podejmuje w niej problematykę związaną z tlenowym metabolizmem komórki, którego nieodłącznym aspektem jest generowanie reaktywnych form tlenu i azotu. Jak wiadomo, zachwianie równowagi pomiędzy reakcjami pro- i antyoksydacyjnymi prowadzi do nasilenia stanów patologicznych w komórce. Wiąże się to z nasileniem procesów prowadzących do uszkodzenia struktur lipidowych, białkowych czy kwasów nukleinowych przy jednoczesnym deficycie mechanizmów ochronnych i naprawczych.

Recenzowaną pracę charakteryzuje konstrukcja typowa dla dysertacji naukowych z wyraźnym podziałem na część teoretyczną prezentującą aktualny stan badań i konstytuującą uzasadnienie dla celu rozprawy oraz część badawczą stanowiącą wkład własny autora w rozwój uprawianej dyscypliny naukowej. Całość dzieła obejmuje, wraz ze stroną tytułową, podziękowaniami (3 strony), spisem treści (5 stron), wykazem skrótów (2 strony) oraz bibliografią (190 pozycji, 17 stron), łącznie 141 stron. Tekst pracy uzupełnia 46 rycin i 29 tabel.

Wstępna część rozprawy to czteroakapitowy wstęp, w którym zwięźle przedstawiono tło naukowe podejmowanej tematyki. Następnie w rozdziale pierwszym „Warunki hiperbaryczne i biochemia stresu oksydacyjnego", złożonym z pięciu podrozdziałów zamieszczono opis hiperbarii i scharakteryzowano istotę stresu oksydacyjnego. Podrozdział „1.2 Prawa gazowe" prezentuje powszechnie znane zależności pomiędzy parametrami stanu gazu doskonałego w warunkach, odpowiednio, izotermicznych, izobarycznych oraz izochorycznych. Nieprzystawalność właściwości gazu doskonałego do rzeczywistości hiperbarycznej, elementarny charakter omawianych zależności, ich intuicyjna oczywistość, a przede wszystkim, brak wyraźnego związku z dalszą częścią rozprawy mogą budzić pewną wątpliwość co do celowości poświęcenia im aż tak szczegółowego komentarza w pracy doktorskiej. Recenzent uważa jednak, że określony wybór treści opracowania jest wyłączną prerogatywą autora i, nie kontestując tego przywileju, chce jedynie zwrócić uwagę na polemiczny charakter samej formy prezentacji. Otóż tak zwane prawa Boyle'a-Mariotta, Gay-Lussaca i Cherles'a nie są niezależnymi regułami fizycznymi, lecz stanowią szczególne przepadki ogólnego prawa wyrażonego równaniem Clapeyrona; $p\tilde{V}=RT$, gdzie p, $\tilde{V}$, i T oznaczają, odpowiednio, ciśnienie, objętość molową oraz temperaturę, natomiast R jest uniwersalną stała gazową. Gdyby autor zechciał właśnie to równanie potraktować jako podstawę dyskusji, to, zakładając stałość kolejno T, p i $\tilde{V}$, w kilku linijkach tekstu doszedłby do wszystkich (z wyjątkiem dyfuzji) wniosków omawianego podrozdziału. Nadto uniknąłby wielokrotnego wyjaśniania tych samych symboli mimo ich niezmiennie jednakowego

znaczenia, a wzór $V=V_0\Delta T/273$ nie przyjąłby błędnej postaci i nie został niewłaściwie zinterpretowany. Podrozdział 1.4 obejmuje opis toksyczności tlenu w kontekście generowania reaktywnych form tego pierwiastka. Autor syntetycznie, co należy pochwalić, przedstawia stan wiedzy związany z reaktywnymi formami tlenu mającymi istotny wpływ na funkcjonowanie komórek. W podrozdziale „1.4.1. Wybrane parametry biochemiczne stresu oksydacyjnego", doktorant opisuje przede wszystkim enzymy antyoksydacyjne oraz dialdehyd malonowy (MDA). W podrozdziale „1.6 Białka szoku cieplnego" z duża erudycją i swobodą prezentacji przedstawiono obecny stan wiedzy w przedmiocie białek opiekuńczych. Lektura wszystkich podrozdziałów w tej części pracy sprawia szczególnie dobre wrażenie i stanowi dowód wyczerpującego przeglądu literatury przedmiotu. Rozdział „2 Cel Pracy" jest sformułowany w sposób prawidłowy i zrozumiały. W kolejnym rozdziale „3. Grupa badana" jedyne zastrzeżenie budzi brak informacji o numerze zgody Komisji Bioetycznej.

W części badawczej pracy zaprezentowano i poddano analizie statystycznej wyniki oznaczeń parametrów stresu oksydacyjnego, tj.: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPX) oraz aldehydu malonowego (MDA). Nadto: białek szoku cieplnego (HSP70 i HSP90), a także izoform syntazy tlenku azotu (eNOS i iNOS), wskaźnika antyoksydacyjnego i żelaza. Należy przy tym zaznaczyć, że wartości dla SOD, CAT i MDA otrzymał autor od dr. hab. M. Kozakiewicza z Collegium Medicum w Bydgoszczy i zamieścił w pracy za jego zgodą (potwierdzone przez profesora Kozakiewicza).

Analizowane wyniki odnoszą się do ekspozycji na warunki hiperbaryczne imitujące nurkowania na głębokość, odpowiednio, 30 i 60 metrów. W wypadku „płytszego zanurzenia", badanych poddano wyłącznie dekompresji tlenowej (pomyłkę w nagłówku tabeli 8 autor skorygował w rozmowie telefonicznej), natomiast w drugim wariancie (60 metrów) obok tlenowej zastosowano także dekompresję powietrzną.

Analizę statystyczną wyników oznaczeń przeprowadzono w dwóch wariantach, tj. pod kątem statystyki wartości oczekiwanej oraz ze względu na siłę związku pomiędzy poszczególnymi zmiennymi losowymi. W pierwszym wariancie przyjęto w charakterze estymatorów położenia i rozproszenia poszczególnych rozkładów, odpowiednio, średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe, w drugim, natomiast, jako miarę współzmienności wybrano współczynnik korelacji liniowej Pearsona. W obu przypadkach wnioskowanie statystyczne odniesiono do poziomu istotności $p = 0,05$. Na 23 testy wykazano 11 istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami średnich arytmetycznych przed i po ekspozycji hiperbarycznej oraz 4 istotne różnice na 6 testów ze względu na metodę dekompresji. Z kolei 208 testów korelacji dało 7 istotnych wartości współczynnika Pearsona. Oznacza to łącznie 237

oryginalnych oraz jednakowo cennych pod względem wartości poznawczej wyników otrzymanych w rezultacie niebudzącej zastrzeżeń metodyki badawczej i opisujących obiektywnie wybrane aspekty post-hiperbarycznego stresu oksydacyjnego.

Statystyka wartości oczekiwanej umożliwiła określenie, z dużym prawdopodobieństwem (na poziomie istotności p = 0,05), znamienności (lub jej braku) zmian koncentracji białek opiekuńczych oraz parametrów stresu oksydacyjnego w zależności od głębokości nurkowania oraz od sposobu dekompresji. Dla czytającego pracę, ta część analizy numerycznej zyskałaby na jednoznaczności, gdyby autor na samym wstępie podał definicję i sens probabilistyczny odchylenia standardowego oraz błędu standardowego. Jest to o tyle ważne, że pierwsza z tych miar statystycznych wyraża się nieco odmiennie w zależności od tego czy oblicza się ją na podstawie próby, czy też zbiorowości generalnej. Druga natomiast wynika wprost z pierwszego członu tej alternatywy.

Z kolei badanie współzmienności poszczególnych par zmiennych losowych dostarczyło odpowiedzi na pytanie o możliwość wiarygodnego przewidywania wartości wybranego parametru na podstawie wiedzy o jego korelacyjnym partnerze. W 201 przypadkach odpowiedź jest negatywna ze względu na nieistotną statystycznie wartość współczynnika Pearsona, natomiast w grupie 7 istotnych korelacji wartości tego współczynnika zawierają się w przedziale (0,46 – 0,81). Oznacza to, że w krańcowych przypadkach tego przedziału całkowita współzmienność korelowanych wielkości daje się wyrazić zależnością liniową w, odpowiednio, 21 i 66 procentach. Dodatkowo, obliczenie efektywności prognostycznej, czyli względnego obniżenia błędu standardowego oceny daje: minimum 11 i maksimum 41 procent. Zatem i w tej grupie korelowanych par odpowiedź na wyżej postawione pytanie jest, mimo istotności współczynników Pearsona, także negatywna co, jednak, jak we wszystkich pozostałych przypadkach, stanowi poznawczo wartościową informację.

Pełna recepcja powyższych rezultatów (tj. analizy korelacyjnej) wymaga jeszcze wyjaśnienia, czy w ocenie współzmienności przyjęto jako kryterium zupełny czy też cząstkowy współczynnik korelacji. Praktyka dowodzi bowiem, że wielkości te mogą się różnić nie tylko wartością liczbową, ale, przy dostatecznie silnym wpływie pozostałych zmiennych, nawet znakiem.

Praca napisana jest na ogół, poprawną polszczyzną a obecne w tekście uchybienia językowo-gramatyczne takie jak dowolność interpunkcyjna, rozłączna pisownia partykuły „nie" z imiesłowami przymiotnikowymi, nie zawsze właściwe stosowanie apostrofu w dopełniaczowej formie nazwiska czy używanie tautologii w rodzaju „tylko i wyłącznie" lub „jedna i ta sama osoba", nie są rażąco częste i nie obniżają oceny merytorycznej strony dzieła.

Obszerna bibliografia uwzględnia wszystkie istotne dla rozwijanej tematyki pozycje, a końcowe wnioski logicznie i rzeczowo korespondują z wcześniej sformułowanymi celami.

Podsumowując stwierdzam, że całość pracy dowodzi dojrzałości naukowej jej autora, stanowi ważny przyczynek do dyskusji na temat stresu oksydacyjnego, a wnosząc do tej dyskusji niezaprzeczalny element nowości naukowej spełnia warunki **art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm)** stawione dysertacjom na stopień doktora.

Wobec powyższego wnoszę o dopuszczenie mgr. Jakuba Szyllera do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

.....

Jerzy K. Garbacz