

Prof. dr hab. Bogumiła Pilarczyk
Katedra Biotechnologii Rozrodu Zwierząt
i Higieny Środowiska
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
ZUT w Szczecinie

Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgr Konrada Grzeszczak** pt. „Ocena stężenia wybranych pierwiastków i parametrów stresu oksydacyjnego w popłodach pochodzących z ciąży mnogich” wykonanej w Pomorskim Uniwersytecie Medycznym w Szczecinie pod kierunkiem Pani prof. dr hab. n. med. Danuty Kosik-Bogackiej i promotora pomocniczego dr n. med. Joanny Lebdowicz-Knul.

Ocena formalna:

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska przygotowana została poprawnie i moim zdaniem spełnia wymogi formalne określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 – tj.) w związku z art. 179 ust. 1 oraz art. 179 ust. 3 pkt. 1 i 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające – Prawo o szkolnictwie wyższy i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669).

Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi cykl dwóch publikacji naukowych i opis niepublikowanych wyników badań dotyczących analizy stężenia pierwiastków śladowych (żelaza, miedzi i cynku) oraz parametrów stresu oksydacyjnego i ochrony antyoksydacyjnej w popłodach pobranych od kobiet w ciąży mnogiej. W chwili obecnej niepublikowane wyniki badań ukazały się w czasopiśmie naukowym o wysokim IF= 6,064 (Grzeszczak, K.; Kapczuk, P.; Kupnicka, P.; Simińska, D.K.; Lebdowicz-Knul, J.; Kwiatkowski, S.K.; Łanocha-Arendarczyk, N.; Chlubek, D.; Kosik-Bogacka, D.I. The trace Element concentrations and oxidative stress parameters in afterbirths from women with multiple pregnancies. *Biomolecules* 2023, 13, 797. <https://doi.org/10.3390/biom13050797>).

Oceniana praca ma charakter naukowo-badawczy, napisana jest poprawnym językiem polskim z zastosowaniem słownictwa naukowego i formalnie odpowiada

wymogom zawartym ww. Ustawie. Od strony formalnej praca nie wzbudza zastrzeżeń.

Przedstawiona do recenzji rozprawa zawiera 105 stron maszynopisu i składa się z następujących części: strony tytułowej, wykazu stosowanych skrótów, streszczenia w j. polskim i j. angielskim, wprowadzenia, hipotezy oraz celów pracy i spodziewanych korzyści z pracy, omówienia artykułu nr 1, omówienia niepublikowanych wyników badań, omówienia artykułu nr 2, podsumowania i wniosków, ograniczenia badania, piśmiennictwa, wykazu tabel, wykazu rycin, publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, oświadczenia współautorów oraz dodatkowych załączników.

Ocena merytoryczna:

Dysertacja doktorska mgr Konrada Grzeszczak stanowi zbiór dwóch spójnych tematycznie prac opublikowanych w latach 2020-2023. Artykuły te zostały zamieszczone w czasopismach naukowych: Biomolecules (IF= 4,879) oraz Life (Basel) (IF= 3,251). Łączna wartość impact factor publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 8,130, co wskazuje na prawidłowy dobór tematu oraz właściwe zaplanowanie i przeprowadzenie badań. Jeżeli do tych wskaźników dodamy pracę, w której przedstawiono niepublikowane wcześniej wyniki badań będące częścią rozprawy doktorskiej, to łączna wartość impact factor tych publikacji wynosi 14,194. W mojej opinii są to bardzo dobre wskaźniki bibliometryczne dla pracy doktorskiej.

Należy podkreślić, że prace badawcze, które składają się na rozprawę doktorską, były poddane wcześniej ocenie przez redakcje czasopism oraz poddane „procesowi” opiniowania przez uznanych niezależnych specjalistów z tego zakresu.

Temat pracy doktorskiej jest bardzo aktualny, sformułowany jasno i precyzyjnie. Tytuł pracy doktorskiej odpowiada w pełni tematyce przedstawionych publikacji oraz niepublikowanych wyników badań wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

W rozdziale zatytułowanym „Wprowadzenie” Autor przedstawiał stan wiedzy dotyczący poruszanej problematyki.

W rozdziale „Hipotezy, cele pracy i spodziewane korzyści z pracy” Autor w sposób jasny i przejrzysty sformułował 5 hipotez badawczych, cel ogólny oraz szczegółowe cele pracy.

Głównym celem badań była ocena stężenia pierwiastków, w tym żelaza (Fe), cynku (Zn), miedzi (Cu), wapnia (Ca), potasu (K), sodu (Na) i magnezu (Mg) oraz ocena parametrów stresu oksydacyjnego i skuteczności ochrony antyoksydacyjnej w popłodach (łożysku, pępowinie i błonach płodowych) pobranych od kobiet w ciąży mnogiej.

Doktorant wytyczył również bardzo ważne cele szczegółowe, takie jak:

- określenie stężenia pierwiastków (Fe, Cu, Zn, Ca, K, Na, Mg) w łożysku, błonie płodowej i pępowinie pobranych od kobiet w ciąży mnogiej w czasie porodu;
- ocena stresu oksydacyjnego w popłodach poprzez pomiar produktów peroksydacji lipidów;
- zbadanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych (katalazy, peroksydazy glutationowej, dysmutazy ponadtlenkowej, reduktazy glutationowej) w popłodach;
- ocena wpływu stężenia poszczególnych pierwiastków na stres oksydacyjny w popłodach;
- ocena zależności pomiędzy stężeniem pierwiastków (Fe, Cu, Zn, Ca, K, Na, Mg) w popłodach, a parametrami morfometrycznymi noworodka;
- zbadanie zależności pomiędzy stężeniem pierwiastków (Fe, Cu, Zn, Ca, K, Na, Mg) w popłodach, a wiekiem, wagą i BMI kobiet;
- analiza zależności pomiędzy stężeniem pierwiastków (Fe, Cu, Zn, Ca, K, Na, Mg) w popłodach, a czasem trwania ciąży, paleniem papierosów przed ciążą oraz podstawową suplementacją w czasie ciąży;
- ocena zależności pomiędzy parametrem stresu oksydacyjnego i aktywnością enzymów antyoksydacyjnych w popłodach, a parametrami antropometrycznymi noworodka;
- analiza zależności pomiędzy parametrem stresu oksydacyjnego i aktywnością enzymów antyoksydacyjnych w popłodach, a czasem trwania ciąży, paleniem papierosów przed ciążą oraz podstawową suplementacją w czasie ciąży.

Najtrudniejszym etapem rozprawy doktorskiej jest sformułowanie tezy badawczej i jej rozwinięcie w postaci hipotez badawczych, które muszą wynikać z

krytycznej analizy piśmiennictwa naukowego. Przytoczone cele, korespondują z zaprezentowanymi przez Autora hipotezami badawczymi:

- **H1.** Występują różnice w stężeniu żelaza (Fe), miedzi (Cu), cynku (Zn), wapnia (Ca), potasu (K), sodu (Na) i magnezu (Mg) w popłodach, w tym łożysku, błonie płodowej i pępowinie;
- **H2.** Stężenie Fe, Cu, Zn, Ca, K, Na i Mg w popłodach wpływa na parametry antropometryczne noworodków (szerokość ramion, wagę, długość ciała, obwód głowy);
- **H3.** Stężenie Fe, Cu i Zn w popłodach wpływa na stężenie antyoksydantów i prooksydantów w łożysku, pępowinie i błonie płodowej;
- **H4.** Wzrost lub spadek stężenia żelaza, cynku lub miedzi wpływa na stężenie pozostałych dwóch pierwiastków;
- **H5.** Stężenie pierwiastków w popłodach pochodzących od kobiet w ciąży mnogiej jest mniejsze niż w popłodach pochodzących z ciąż pojedynczych (porównanie z danymi z piśmiennictwa naukowego).

Mgr Konrad Grzeszczak spójnemu tematycznie cyklowi dwóch publikacji nadał tytuł „Ocena stężenia wybranych pierwiastków i parametrów stresu oksydacyjnego w popłodach pochodzących z ciąż mnogich”. Podstawą rozprawy doktorskiej są dwie publikacje naukowe:

- Grzeszczak K, Kwiatkowski S, Kosik-Bogacka D. The Role of Fe, Zn, and Cu in pregnancy. *Biomolecules*. 2020;10(8):1176. doi.org/10.3390/biom10081176 (IF=4.879; MEiN: 100.0)
- Grzeszczak K, Kapczuk P, Kupnicka P, Cecerska-Heryć E, Kwiatkowski S, Chlubek D, Kosik-Bogacka D. Calcium, potassium, sodium, and magnesium concentrations in the placenta, umbilical cord, and fetal membrane from women with multiple pregnancies. *Life (Basel)*. 2023;13(1):153. doi: 10.3390/life13010153. (IF= 3.251; MEiN: 70.0)

We wszystkich publikacjach składających się na cykl, będący podstawą rozprawy, Doktorant jest pierwszym autorem. Wkład mgr Konrada Grzeszczak w tych publikacjach nie został określony procentowo. Jednak na podstawie oświadczeń współautorów można wnioskować, że był on znaczący. W pracy oryginalnej Doktorant miał wiodącą rolę w sformułowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań, opracowaniu wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptu do publikacji. W pracy przeglądowej Autor trafnie wybrał temat i koncepcję publikacji, którą poparł obszernym piśmiennictwem. Opracował również manuskrypt do publikacji. Współautorstwo prac Doktoranta wskazuje na posiadanie zdolności organizacyjnych i umiejętności pracy w zespole. Jest to cecha jak najbardziej pożądana we współczesnej nauce. Obecnie nikt indywidualnie nie jest w stanie dokonać znaczących osiągnięć naukowych. Podkreślić należy, że prace składające się na cykl zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z listy JCR o wysokich współczynnikach wpływu oraz dużej liczbie punktów MNiSW. Publikacje składające się na cykl, są bardzo dobrze i starannie przygotowane, zawierają przejrzystą, właściwie dobraną do prezentowania wyników dokumentację graficzną.

W rozdziale „**Omówienie artykułu nr 1**” (Grzeszczak K, Kwiatkowski S, Kosik-Bogacka D. The Role of Fe, Zn, and Cu in pregnancy. *Biomolecules* 2020; 10:1176. doi: 10.3390/biom10081176) Doktorant podsumował dane z piśmiennictwa naukowego dotyczącego wpływu Fe, Cu i Zn na przebieg ciąży pojedynczej i mnogiej, a także omówił zależności zachodzących pomiędzy tymi pierwiastkami. Wysoka jakość pracy przeglądowej opublikowanej w 2020 roku wskazuje na bardzo dużą wiedzę Doktoranta oraz zainteresowanie poruszaną tematyką.

Rozdział „**Omówienie nieopublikowanych wyników badań**” został podzielony na 7 podrozdziałów: wstęp, cel badania, materiał i metody, opracowanie statystyczne, wyniki, dyskusja, podsumowanie i wnioski.

Wstęp zawiera 4 podrozdziały takie jak: stres oksydacyjny (OS), system antyoksydacyjny, pierwiastki śladowe a stres oksydacyjny i potencjalne biomarkery stresu oksydacyjnego. W tym rozdziale Autor z dużą znajomością podjętego tematu, w

sposób zwięzły, ale zawierający najważniejsze zagadnienia uzasadnił cel pracy. Takie przedstawienie zagadnień uważam za w pełni przemyślane i dające możliwość właściwego wprowadzenia i zapoznania z podjętą w pracy problematyką badawczą. Ten rozdział pracy jest bardzo wartościową częścią ocenianej dysertacji i może być pomocny dla innych badaczy zainteresowanych poruszaną problematyką (obecnie wiemy, że został opublikowany w bardzo dobrym czasopiśmie z impact factor).

W rozdziale „Cel pracy” Autor w sposób jasny i przejrzysty sformułował cele pracy oraz je uzasadnił. Moim zdaniem w tym rozdziale Doktorant powinien postawić hipotezę badawczą. Celem tego badania była ocena parametrów stresu oksydacyjnego poprzez określenie stężenia produktów peroksydacji lipidów w błonach płodowych, pępowinie i łożysku pobranych od kobiet w ciąży mnogiej.

Rozdział „Materiał i metody” został podzielony na trzy zasadnicze części: charakterystyka badanej grupy, oznaczanie stężenia pierwiastków w badanych próbkach oraz oznaczenie stresu oksydacyjnego. Dla realizacji założonego celu badawczego mgr Konrad Grzeszczak zastosował nowoczesne metody badawcze, które w sposób szczegółowy i uporządkowany przedstawił w tym rozdziale. Ten rozdział został napisany z dużą starannością. Jest to istotne dla oceny rzetelności i powtarzalności przeprowadzonych badań. Badania wykonano przy użyciu nowoczesnych i dobrze dobranych metod, które gwarantują wiarygodność uzyskanych wyników. Zakres i dobór materiału badawczego nie budzą zastrzeżeń.

Duży nakład pracy w przeprowadzenie doświadczenia oraz analiza wyników badań wskazują na dobre przygotowanie Doktoranta do pracy laboratoryjnej, jak również dobre przygotowanie teoretyczne do analizowanych zagadnień.

W rozdziale „Opracowanie statystyczne” mgr Konrad Grzeszczak przedstawił zastosowane metody statystyczne, które zostały dobrane właściwie.

Rozdział „Wyniki” zawiera dużo cennych danych, które stanowią bardzo dobry materiał do publikacji w znaczącym czasopiśmie (na dzień dzisiejszy wiemy, że został opublikowany w bardzo dobrym czasopiśmie naukowym). Rozdział ten został podzielony na dwa podrozdziały (stężenie pierwiastków w popłodach, analiza parametrów stresu oksydacyjnego i aktywności enzymów antyoksydacyjnych), które ułatwiają czytelnikowi śledzenie omawianych wyników. Doktorant uzyskane dane zamieścił na rycinach, na których widać zależności pomiędzy analizowanymi

parametrami. Układ rycin jest przejrzysty i komunikatywny. Materiał ilustracyjny właściwie podpira przedstawiane wyniki badań i jest merytorycznie przekonywujący.

Rozdział „Dyskusja” został podzielony omyłkowo na trzy podrozdziały. Moim zdaniem w tym rozdziale powinny być tylko dwa podrozdziały tj. stężenia pierwiastków śladowych w popłodach oraz stres oksydacyjny i stężenia Fe, Cu, Zn.

Moim zdaniem najważniejszym merytorycznym kryterium oceny pracy doktorskiej jest umiejętność krytycznej oceny uzyskanych wyników badań własnych na tle dostępnego piśmiennictwa naukowego. Doktorant tą część pracy w rozdziale „Dyskusja” przeprowadził na dobrym poziomie naukowym, a uzyskane wyniki prawidłowo zinterpretował. W dyskusji dokonano wyczerpującej interpretacji poczynionych spostrzeżeń przy jednoczesnym zachowaniu krytycyzmu naukowego. Przeprowadzona przez Doktoranta dyskusja na tle bogatego piśmiennictwa świadczy o bardzo dobrej znajomości analizowanej tematyki badawczej. Wyniki prezentowanych przez Doktoranta badań są analizowane i dyskutowane na tle bieżącej literatury zagranicznej.

Rozdział „Podsumowanie i wnioski” jest logicznym efektem uzyskanych w badaniach wyników i przeprowadzonej dyskusji.

W rozdziale „**Omówienie artykułu nr 2**” (Grzeszczak K, Kapczuk P, Kupnicka P, Cecerska-Heryć E, Kwiatkowski S, Chlubek D, Kosik-Bogacka D. Calcium, potassium, sodium, and magnesium concentrations in the placenta, umbilical cord, and fetal membrane from women with multiple pregnancies. *Life* (Basel). 2023;13(1):153) Doktorant omówił oraz przedstawił wnioski wypływające z przeprowadzonych badań. Na uwagę zasługuje fakt, że są to pierwsze badanie oceniające stężenia Ca, Na, K i Mg w popłodach kobiet w ciąży mnogiej. Uzyskane wyniki uzupełniają wiedzę na temat stężeń pierwiastków w ciąży mnogich i ich ewentualnego wpływu na parametry antropometryczne płodu. Wyniki badań w analizowanej oryginalnej publikacji naukowej zostały przedstawione w sposób bardzo dobrze przemyślany.

Dyskusja w omawianej publikacji została przeprowadzona na bardzo dobrym poziomie naukowym, a uzyskane wyniki prawidłowo zinterpretowane. W dyskusji

dokonano wyczerpującej interpretacji poczynionych spostrzeżeń przy jednoczesnym zachowaniu krytycyzmu naukowego.

W rozdziale „**Podsumowanie i wnioski**” Doktorant sformułował końcowe wnioski, które są logicznym efektem uzyskanych w badaniach wyników i przeprowadzonej dyskusji, zostały one trafnie ujęte i świadczą o dużej zdolności Autora do syntetycznej analizy uzyskanych wyników. Wszystkie założenia i cele pracy doktorskiej zostały zrealizowane

Autoreferat i jego streszczenie odznacza się podobnie jak publikacje wysoką jakością. Autor potrafił w bardzo przystępnej, syntetycznej formie przedstawić całość zagadnienia, naświetlić cele i przebieg badań oraz podkreślić ważność uzyskanych wyników. W mojej opinii rozprawa zasługuje na wysoką ocenę pod względem merytorycznym. Przeprowadzenie szeroko zaplanowanych badań, ich analiza i ostateczne opracowanie wymagało dużego nakładu pracy.

W autoreferacie Doktorant powołał się aż na 188 publikacji. Przegląd wiedzy zaprezentowany w publikacji przeglądowej został przeprowadzony na podstawie 379 wartościowych, dobrze dobranych publikacji. W publikacji doświadczalnej Doktorant odwołał się do 86 publikacji naukowych.

Podsumowanie

Uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria, jakie są stawiane tego typu opracowaniom. Praca została właściwie zaplanowana, bardzo dobrze wykonana, a uzyskane wyniki przedstawiono w renomowanych, specjalistycznych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Mgr Konrad Grzeszczak wykazał się bardzo dobrą orientacją w analizowanych zagadnieniach.

Praca doktorska spełnia wymogi określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 – tj.) w związku z art. 179 ust. 1 oraz art. 179 ust. 3 pkt. 1 i 2b Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające – Prawo o szkolnictwie wyższy i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669). Dlatego zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne, Pomorskiego Uniwersytetu

Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie mgr Konrada Grzeszczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę aktualną tematykę i wysoki poziom badań przedstawionych w dysertacji oraz opublikowanie prac w międzynarodowych czasopismach naukowych z wysoką sumaryczną wartością IF, wnoszę o wyróżnienie *summa cum laude* ocenianej pracy doktorskiej mgr Konrada Grzeszczak.

Bogumiła
Pilerczyk

Szczecin, dnia 14.05.2023 r.