

Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej

Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej

tel/fax:+48 42 677-91-30

e-mail: [ewa.balcerczak@umed.lodz.pl](mailto:ewa.balcerczak@umed.lodz.pl)

**prof. dr hab. n. farm. Ewa Balcerczak**

Łódź, 3 września 2022r.

### Recenzja

**Rozprawy doktorskiej: „Przydatność wybranych parametrów w ocenie chorób współistniejących oraz terapii antyretrowirusowej u osób zakażonych HIV” mgr Karoliny Jurkowskiej na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.**

Recenzję przygotowano w związku z pismem Zastępcy Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych UMW, dr hab. Adama Junka.

Przedstawiony do recenzji cykl publikacji poświęcony jest ocenie przydatności wybranych parametrów w ocenie chorób współistniejących oraz terapii antyretrowirusowej u osób zakażonych HIV.

Praca została wykonana w Katedrze i Zakładzie Toksykologii Wydziału Farmaceutycznego pod kierunkiem Pani Profesor dr hab. Agnieszki Piwowar oraz dr n. farm. Beaty Szymańskiej.

Założenia pracy wpisują się w jeden z istotnych klinicznie nurtów naukowych, jakim jest poszukiwanie nowych parametrów laboratoryjnych o potencjalnym zastosowaniu, w monitorowaniu skuteczności leczenia, w kontekście chorób współistniejących, u osób zakażonych HIV.

Przedmiotem pracy była ocena wpływu zakażenia HIV oraz skojarzonej terapii antyretrowirusowej ART na zmiany stężeń wybranych parametrów w osoczu osób zakażonych HIV w porównaniu do osób niezakażonych. Ocenione zostały zależności zmian stężenia badanych parametrów w aspekcie zastosowanego schematu terapeutycznego oraz miana replikacji wirusa HIV RNA i liczby limfocytów T CD4+ i CD8+ u osób z dwóch wymienionych grup.

Rozprawę doktorską stanowi cykl czterech publikacji, które zostały opublikowane w czasopiśmie z list MNiSW oraz Journal Citation Reports. Doktorantka jest pierwszym autorem w trzech pracach oraz drugim autorem w czwartej. Do rozprawy zostały dołączone oświadczenia współautorów, z których jasno wynika na czym polegała rola Doktorantki w każdej z publikacji składających się na cykl.

Łączna wartość Impact Factor dla prezentowanych publikacji wynosi 20,302 oraz 520 punktów MNiSW.

W skład rozprawy wchodzi poniższe publikacje:

1. Jurkowska K, Szymańska B, Knysz B, Kuźniarski A, Piwowar A. Sirtuins as Interesting Players in the Course of HIV Infection and Comorbidities. *Cells*. 2021; 10(10):2739. IF 2020: 6,600 Punkty MEiN: 140
2. Jurkowska K, Szymańska B, Knysz B, Piwowar A. The Effect of Antiretroviral Therapy on SIRT1, SIRT3 and SIRT6 Expression in HIV-Infected Patients. *Molecules*. 2022; 27(4):1358. IF 2020: 4,412 Punkty MEiN: 140
3. Jurkowska K, Szymańska B, Knysz B, Piwowar A. Effect of Combined Antiretroviral Therapy on the Levels of Selected Parameters Reflecting Metabolic and Inflammatory Disturbances in HIV-Infected Patients. *Journal of Clinical Medicine*. 2022; 11(6):1713. IF 2020: 4,242 Punkty MEiN: 140
4. Szymańska B, Jurkowska K, Knysz B, Piwowar A. Differences in Expression of Selected Interleukins in HIV-Infected Subjects Undergoing Antiretroviral Therapy. *Viruses*. 2022; IF 2020: 5,048 Punkty MEiN:100

We Wstępie pracy omówiono epidemiologię zakażeń wirusem HIV, przebieg zakażenia, współistniejące choroby jak również leczenie antyretrowirusowe, uwzględniając najnowsze zalecenia Europejskiego Stowarzyszenia Badań nad AIDS co stanowi bardzo dobre wprowadzenie do części eksperymentalnej.

Celem pracy doktorskiej było oznaczenie 15 wybranych nierutynowych parametrów związanych z regulacją gospodarki węglowodanowej, lipidowej, rozwojem stanu zapalnego oraz odpowiedzi układu immunologicznego w osoczu osób zakażonych HIV przed terapią

cART, po upływie 12 miesięcznej terapii oraz u osób niezakażonych HIV, stanowiących grupę kontrolną. Wybrane parametry zostały zebrane w trzy tematyczne obszary, a cel główny został podzielony na 5 działań, które zostały zrealizowane i omówione w 4 publikacjach. Do pierwszego panelu w którym oceniono sirtuiny, Doktorantka analogicznie jak dla panelu 2 i 3 mogła zamieścić bardziej obszerne uzasadnienie dlaczego te parametry zostały wybrane i na jakie procesy wpływają.

W części poświęconej materiałom i metodom Doktorantka scharakteryzowała grupę badaną i kontrolą, kryteria włączenia, zastosowane schematy leczenia oraz omówiła techniki badawcze, które szczegółowo zostały przedstawione w publikacjach składających się na cykl. Prosiłabym jedynie o wyjaśnienie dlaczego grupę badaną zawężono do mężczyzn, jak również uzasadnienie różnic w liczebności pomiędzy grupą badaną oraz kontrolną.

W publikacji pierwszej o charakterze przeglądowym, przedstawiono stan wiedzy o enzymach z rodziny Sirtuin (SIRTs) w rozwoju chorób towarzyszących zakażeniu wirusem HIV, które są zaangażowane w kontrolę metaboliczną, stres oksydacyjny, stan zapalny, apoptozę a także wpływają na przebieg infekcji wirusowych. Zebrane dane wskazują na potencjalny udział SIRTs w komórkowych szlakach sygnałowych wspólnych dla niektórych białek wirusa HIV, prowadzących do: osteoporozy - tu szczególną rolę odgrywa SIRT1i SIRT6, cukrzycy typu 2 i insulinooporności, gdzie największe znaczenie przypisano SIRT1, SIRT2, SIRT3 i SIRT6, niealkoholowej stłuszczeniowej chorobie wątroby i zaburzeniach metabolizmu lipidów, w których największe znaczenie przypisuje się SIRT1, SIRT3 i SIRT6, chorób układu krążenia - ze wskazywaną rolą największej liczby sirtuin - SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5 i SIRT6, chorób nerek, gdzie szczególną rolę przypisuje się SIRT1 i SIRT3, oraz chorób jamy ustnej, gdzie podkreślana jest rola SIRT1 i SIRT4.

Praca ta stanowi wprowadzenie do drugiej publikacji eksperymentalnej *The Effect of Antiretroviral Therapy on SIRT1, SIRT3 and SIRT6 Expression in HIV-Infected Patients*, w której badano wpływ zakażenia HIV oraz terapii antyretrowirusowej cART na poziom SIRT1, SIRT3 i SIRT6 w osoczu krwi mężczyzn zakażonych HIV w obserwacji jednorocznej w odniesieniu do grupy kontrolnej. Wyniki sugerują, że największy udział w patogenezie zakażenia HIV odgrywa SIRT6. Pokazują również korzystny wpływ terapii cART na stężenie SIRT6 oraz odpowiedź układu immunologicznego i jego zdolność do kontrolowania infekcji HIV, poprzez aktywność limfocytów T CD8+. Termin ekspresja często używany przez

Doktorantkę w odniesieniu do stężenia białka powinien być stosowany raczej do mRNA lub białka ocenianego technikami immunohistochemicznymi.

Trzecia publikacja. *Effect of Combined Antiretroviral Therapy on the Levels of Selected Parameters Reflecting Metabolic and Inflammatory Disturbances in HIV-Infected Patients* jest także pracą oryginalną, w której przedstawiono wpływ zakażenia HIV oraz zastosowanej rocznej terapii cART na stężenia wybranych parametrów związanych z metabolizmem węglowodanów i lipidów, CVD i stanem zapalnym w osoczu krwi mężczyzn zakażonych HIV. Badanymi parametrami były: iryzyna (IRS), miostatyna (MSTN), ludzki peptyd YY (PYY), peptyd glukagonopodobny 1 (GLP-1), dipeptydylopeptydaza 4 (DPP4), fetuina A (FETU-A), pentraksyna 3 (PTX3), czynnik pochodzenia stromalnego 1 (SDF-1) i chemokina RANTES. Uzyskane wyniki wskazują na istotne zmiany dla sześciu z dziewięciu badanych parametrów, tj. IRS, MSTN, PYY, GLP-1, PTX3, RANTES w przebiegu zakażenia HIV oraz w efekcie wdrożenia terapii cART, w stosunkowo krótkim okresie obserwacji wynoszącym jeden rok. Po rocznej terapii cART nie wykazano różnic istotnych statystycznie między stężeniami badanych parametrów pomiędzy grupą badana a grupą kontrolną, co sugeruje wzrost poziomu badanych białek po zastosowaniu leczenia antyretrowirusowego.

Czwarta publikacja *Differences in expression of selected interleukins in HIV- infected subject undergoing antiretroviral therapy* omawia zależność między zakażeniem HIV oraz wpływem terapii cART na stężenia trzech wybranych interleukin: IL-4, IL-7 i IL-15 w osoczu krwi mężczyzn zakażonych HIV jako wskaźników procesu zapalnego w przebiegu zakażenia HIV. Wykazano istotne zmiany w poziomach badanych interleukin w przebiegu zakażenia wirusem HIV oraz zmianę ich stężenia po zastosowaniu terapii cART. Najbardziej wyraźne zmiany stwierdzono dla IL-4 oraz IL-7, co wskazuje na ich istotny udział w przebiegu zakażenia wirusem HIV.

Doktorantka w sposób prawidłowy zaplanowała, zaprojektowała i przeprowadziła badania, których wyniki z sukcesem upubliczniła oraz zaprezentowała w postaci cyklu publikacji składających się na recenzowaną pracę doktorską.

Postawione cele zostały osiągnięte. Uzyskane wyniki pracy doktorskiej pozwoliły Doktorantce na przyjrzenie się parametrom laboratoryjnym, które nie są oznaczane rutynowo, w przebiegu zakażenia wirusem HIV. Istotnym wydaje się kontynuowanie badań na większej grupie badanej. Drobną uwagę dotyczy braku zbiorczej analizy statystycznej dla tych

parametrów, które wyselekcjonowano w trzech pracach eksperymentalnych. Być może będzie to przedmiotem kolejnych działań naukowych Doktorantki, w celu opracowania potencjalnego wieloczynnikowego panelu diagnostycznego.


Należy podkreślić, że wyniki uzyskane w ramach pracy doktorskiej mają istotne znaczenie ponieważ w piśmiennictwie brak badań obejmujących przeanalizowane przez Doktorantkę parametry charakteryzujące zaburzenia metaboliczne, odpowiedź immunologiczną oraz zmiany zapalne u osób zakażonych HIV w obserwacji 12-sto miesięcznej oraz ocenę wpływu zakażenia jak i zastosowanej terapii na zmiany ich stężeń, co decyduje o nowotarskim charakterze przeprowadzonych badań. Dodatkowo uzyskane dane pokazują na potencjalne wykorzystanie zbadanych parametrów w monitorowaniu przebiegu zakażenia HIV, skuteczności leczenia czy optymalizacji terapii.

Uzyskane wyniki zostały przez Doktorantkę dodatkowo zebrane w podsumowaniu, a przedyskutowane w odniesieniu do piśmiennictwa w każdej z publikacji stanowiących cykl. Doktorantka przedstawiła w nich przekonujące omówienie wyników wpływających z własnych badań w porównaniu z danymi dostępnymi w cytowanych publikacjach.

Podsumowując, praca została przygotowana w sposób właściwy, a pojedyncze błędy nie wpływają na jej ostateczną, wysoką ocenę.

Z ogromną przyjemnością stwierdzam zatem, że praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych, Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o przyjęcie rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Jurkowskiej i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wniosuję również do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pani magister Karoliny Jurkowskiej zatytułowanej "Przydatność wybranych parametrów w ocenie chorób współistniejących oraz terapii antyretrowirusowej u osób zakażonych HIV" stosowną nagrodą ze względu na wysoki IF cyklu prac składających się na rozprawę doktorską i ich wysoką wartość naukową.

Z poważaniem,  
Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
  
Prof. dr hab. n. farm. Ewa Balcerczak  
Ewa Balcerczak