



Poznań, dn. 18.03.2025 r.

Rekomendacja recenzji
prof. dr hab. Tomasz Grzybowski
Z-ca Przewodniczącej
Rady Dyscypliny Nauki Medyczne

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lekarz **Marii Zabrzyńskiej** zatytułowanej:

Ocena mikroskopowa łąkotec u pacjentów poddanych endoprotezoplastyce stawów kolanowych

Łąkotki pełnią wiele ważnych funkcji w stawie kolanowym. Ich rola polega na amortyzacji sił działających na powierzchni chrzęstną dystalnej części kości udowej oraz proksymalnej części kości piszczelowej. Zapewniają bierną stabilizację stawu kolanowego, wspomagają również odżywienie powierzchni chrzęstnej poprzez rozprowadzanie płynu stawowego po stawie. Ich działanie chondroprotektoryjne, czyli ochronne na powierzchni chrzęstnej stawu kolanowego, ma znaczenie w przeciwdziałaniu powstaniu zmian zwyrodnieniowych kolana.

Poznanie cech morfologicznych łąkotec oraz ich funkcji i właściwości biomechanicznych stanowi zainteresowanie licznych badaczy na świecie.

Podjęte przez Doktorantkę badania nad tym ważnym zagadnieniem należy przyjąć z dużym uznaniem.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lekarz Marii Zabrzyńskiej jest oparta na dwóch pracach oryginalnych i wstępie opracowanym na podstawie pracy poglądowej oraz uzupełnionym rycinami w liczbie 7. Rozprawa obejmuje również liczne załączniki, co w całości obejmuje 94 strony druku komputerowego. Piśmiennictwo stanowi 109 pozycji angielskojęzycznych, spośród których 1/3 to pozycje aktualne - pochodzące z ostatnich pięciu lat.

Przedłożona do oceny rozprawa ma układ składający się ze wstępu, celów pracy, streszczeń dwóch oryginalnych artykułów (omawiających cele szczegółowe, materiał, metody i wyniki)

oraz wniosków uzyskanych na podstawie przedstawionych dwóch publikacji. W dalszej części znajdujemy streszczenie rozprawy w języku polskim i angielskim, wykaz piśmiennictwa, a następnie przedruk dwóch oryginalnych prac. Tekst rozprawy kończą załączniki – skany zgód Komisji Bioetycznych oraz oświadczenia współautorów publikacji będących podstawą pracy doktorskiej.

Rozprawę doktorską lekarz Marii Zabrzyńskiej rozpoczyna wstęp, w którym Doktorantka wyjaśnia etymologię słowa łąkotka oraz opisuje funkcje jakie pełni ta anatomiczna struktura w stawie kolanowym. Następnie na trzech rycinach przedstawia uszkodzone łąkotki w obrazie artroskopowym i rezonansu magnetycznego oraz obraz w artroskopii po ich naprawie.

W rozdziale drugim opracowanym na podstawie artykułu poglądowego z 2023 roku zatytułowanego: *A current insight into Human Knee Menisci*, doktorantka omawia budowę i funkcje łąkotek. W tej części pracy dowiadujemy się nie tylko o makroskopowej budowie, ale również i mikroskopowej (histologicznej) strukturze łąkotki przyśrodkowej i bocznej. Omówione zostało również unaczynienie i odżywianie tej tkanki. Całość rozdziału drugiego uzupełniają ryciny: model przekroju łąkotki oraz jej trzy obrazy mikroskopowe w barwieniu hematoksyliną i eozyną.

W rozdziale trzecim Doktorantka definiuje proces jakiemu podlegają wszystkie elementy stawu kolanowego w chorobie zwyrodnieniowej oraz opisuje wpływ palenia papierosów na procesy gojenia łąkotek po ich naprawie.

W rozdziale czwartym opisano cele pracy. Jako główny cel rozprawy dr Zabrzyńska postawiła ocenę mikroskopową zmian degeneracyjnych łąkotek w stawach kolanowych objętych procesem zwyrodnieniowym u pacjentów poddanych endoprotezoplastyce. Dodatkowo w celach szczegółowych Doktorantka poddała ocenie stopień degeneracji łąkotki w skali Bonara oraz w jej zmodyfikowanej wersji. Dr Zabrzyńska oceniła również stopień degeneracji łąkotki w zależności od osi kończyny dolnej oraz negatywny wpływ palenia papierosów na jej mikrostrukturę. Jako ostatni cel szczegółowy określiła porównawczą ocenę zmian degeneracyjnych w łąkotce przyśrodkowej i bocznej.

W dążeniu do realizacji zamierzonych celów pracy Doktorantka przedstawiła przedruki dwóch oryginalnych artykułów z 2024 roku opublikowanych w czasopismach naukowych *Medicina* oraz *Applied Sciences* o łącznym wskaźniku oddziaływania wynoszącym IF=4,9, których łączna

punktacja MNISW wynosi 140. Zgodnie z załączonymi oświadczeniami współautorów można stwierdzić, iż wkład Doktorantki w powstanie tych prac był znaczący i optymalnie oszacowany w stosunku do ilości autorów i zakresu indywidualnego wkładu merytorycznego.

W pierwszej publikacji przebadano 65 próbek obu łąkotek pobranych od 34 pacjentów podczas operacji endoprotezoplastyki stawu kolanowego. Poszczególne grupy badane odpowiadały porównywalnymi danymi demograficznymi. Grupa niepalących była prawie dwukrotnie większa niż grupa osób palących, co odpowiada aktualnym trendom w naszym społeczeństwie. Szkodliwy wpływ nikotyny na organizm człowieka opisywany w licznych publikacjach jest coraz szerzej zauważalny wśród ogółu Polskiego społeczeństwa, co może tłumaczyć trudności w pozyskaniu odpowiedniej liczby badanych palaczy poddanych endoprotezoplastyce stawu kolanowego. Toksycznie działanie nikotyny również na narząd ruchu tłumaczy podjęte przez zespół szczegółowe badania wpływu palenia papierosów na łąkotki w stawie kolanowym.

Opisana w pracy metodyka – barwienie i ocena histologiczna (mikroskopowa) w skali Bonara i jej zmodyfikowanej wersji w ocenie recenzenta jest wystarczająca i odpowiada wymogom pracy naukowej w badaniu pilotażowym.

Uzyskane wyniki poddano opracowaniu statystycznemu przy pomocy wybranych testów (m. in. Shapiro-Wilka, Spearmana, Manna-Whitneya) z wykorzystaniem programu GraphPad Prism. Zastosowane metody statystyczne mieszczą się w standardach pracy naukowej.

W kolejnej części pierwszej pracy, w Wynikach, opisano dane demograficzne grupy badanej oraz średnie wyniki oceny histologicznej w klasycznej, jak i zmodyfikowanej skali Bonara. Następnie skorelowano otrzymane wyniki z danymi pozyskanymi w badaniu. Wykazano istotną negatywną korelację między liczbą wypalonych papierosów a architekturą kolagenu w łąkotce przyśrodkowej. Podobnie, negatywną korelację wykazano w ocenie w zmodyfikowanej skali Bonara w obu łąkotkach. Zaobserwowano istotne statystycznie różnice w organizacji włókien kolagenowych łąkotek osób palących oraz osób niepalących. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w morfologii chondrocytów, unaczynieniu, neowaskularyzacji, jakości kolagenu w ocenie histologicznej w łąkotkach bocznych osób palących jak i niepalących.

Otrzymane w pracy wyniki nie potwierdziły w sposób jednoznaczny wpływu palenia papierosów na degenerację tkanki łąkotki w skali Bonara poza zmianami w strukturze kolagenu. Nikotyna ma niewątpliwie negatywny wpływ na zdrowie człowieka. Wnioski wyciągnięte z pracy w sposób ostrożny potwierdzają tę tezę. Opisana w Dyskusji interpretacja wyników ujemnej korelacji w ocenie w zmodyfikowanej skali Bonara z liczbą wypalanych papierosów wskazuje na to, iż w tkance o niskiej metabolicznej aktywności, jaką jest łąkotka, przejściowe niedotlenienie (niedokrwienie) spowodowane nikotyną stymuluje procesy angiogenezy najprawdopodobniej poprzez działanie czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF).

Autorzy słusznie zauważyli, iż to pilotażowe badanie powinno być kontynuowane na większej grupie badanych. W kolejnych pracach badawczych sugerowałbym również, włączenie takich narzędzi i metod, które potwierdzą histopatologicznie tezę o negatywnym działaniu nikotyny na organizm człowieka.

W drugiej publikacji pochodzącej z czasopisma *Applied Sciences* przebadano próbki 83 łąkoteczek pochodzących od 44 pacjentów poddanych zabiegowi endoprotezoplastyki stawów kolanowych. Deformacja szpotawa kończyn dolnych, podobnie jak płeć żeńska przeważały w grupie badanej, co jest odzwierciedleniem danych demograficznych typowych dla idiopatycznej choroby zwyrodnieniowej stawów kolanowych. Pozostałe dane: wiek i nasilenie dolegliwości w skali VAS były zbliżone do siebie w obu grupach badanych.

Za cel pracy postawiono ocenę degeneracji tkanki łąkoteczek przyśrodkowej i bocznej w ocenie histologicznej z wykorzystaniem klasycznej i zmodyfikowanej skali Bonara. Próbkę łąkoteczek pobrane podczas zabiegu przygotowano do analizy po barwieniu H+E i błękitu alcjańskiego poddano ocenie w mikroskopie świetlnym przez dwóch badaczy.

Opisana metoda badawcza odpowiada standardom stosowanym w ocenie tego typu tkanek. Uzyskane wyniki poddano opracowaniu statystycznemu przy pomocy wybranych testów (m. in. Shapiro-Wilka, Spearmana, Manna-Whitneya) z wykorzystaniem programu GraphPad Prism. Zastosowane metody statystyczne mieszczą się w standardach pracy naukowej.

W tej pracy ocena histologiczna łąkoteczek wykazała ich degenerację bez zależności od osi kończyny, przedziału stawu kolanowego w obu klasyfikacjach Bonara – klasycznej jak

i zmodyfikowanej. Otrzymane wyniki nie tylko odpowiadają na zadane w tytule doniesienia pytanie, ale potwierdzają również to, iż choroba zwyrodnieniowa jest schorzeniem uogólnionym dotyczącym całości stawu, nie tylko chrząstki czy też tylko przedziału przyśrodkowego.

Na podstawie dwóch oryginalnych publikacji Doktorantka w rozdziale szóstym rozprawy wysunęła wnioski w liczbie czterech odpowiadające tylko części celów badawczych.

Przedstawienie uwag krytycznych do dysertacji lekarz Marii Zabrzyńskiej jest przywilejem i obowiązkiem recenzenta.

1. We wstępie doktoratu zabrakło jasno sformułowanego akapitu wyjaśniającego zasadność podjęcia przez Doktorantkę badania określonego w celach pracy. Zastanawiający jest też fakt, iż nie dołączono do Rozprawy pracy poglądowej zatytułowanej: *A current insight into Human Knee Menisci*, której Doktorantka jest współautorem i na której podstawie opisała szczegółowo w rozdziale drugim budowę i funkcje łąkotek.
2. W rozprawie brakuje części poświęconej założeniom pracy oraz spisu skrótów stosowanych w doktoracie.
3. Brakuje stwierdzenia czy Doktorantka uczestniczyła w ocenie mikroskopowej badanego materiału.
4. Kryteria włączenia i wyłączenia z badania w pierwszej pracy są niejasno sformułowane (włączono chorych z RZS i wyłączono chorych z wtórną CHZS oraz chorobami autoimmunologicznymi). Nie można z całą stanowczością, jak podają autorzy, określić, iż II st. w klasyfikacji Kellgena-Lawrence'a (w pierwszej pracy) czy II st. w klasyfikacji Ahlbaecka (w drugiej pracy) to „end-stage osteoarthritis”. W obu publikacjach w rozdziale Wyniki podano charakterystykę grupy badanej (wiek, płeć i inne dane demograficzne), co powinno być zamieszczone w rozdziale materiał i metodyka badań.
5. W rozprawie doktorskiej lek. Marii Zabrzyńskiej brak jest chronologii w osi cele – wnioski: celowi 1 nie odpowiada żaden wniosek, celowi 2 – wniosek 4, celowi 3 – wniosek 2 i 3, celowi 4 – wniosek 4.
6. Trzy spośród czterech wniosków są powtórzeniem wyników, co potocznie określa się jako tzw. wnioski wynikowe.

7. Czytając pracę można zauważyć zmęczenie Doktorantki wysiłkiem, który niewątpliwie każdy piszący wkłada w pracę twórczą. Odzwierciedleniem tego były niefortunne określenia wielokrotnie powtarzane np.: na str. 18,20,21,22 „oś stawu kolanowego” zamiast „oś kończyny dolnej”. W pracy można znaleźć nieliczne błędy edytorskie, głównie w piśmiennictwie, które wymagałyby poprawienia i ujednolicenia. Rozdział dziewiąty - Bibliografia posiada 109 pozycji piśmiennictwa, ale tylko niespełna połowa z nich jest cytowana w rozprawie.

Wymienione uwagi mają charakter porządkujący i redakcyjny, bez istotnego wpływu na pozytywną ocenę całości rozprawy lekarz Marii Zabrzyńskiej.

Reasumując stwierdzam, iż praca doktorska lekarz Marii Zabrzyńskiej zawiera dobrze udokumentowane wyniki uzyskane przy użyciu kilku technik badawczych począwszy od badania klinicznego, poprzez badania obrazowe i badania histopatologiczne.

Autorka prawidłowo sformułowała cele pracy i do ich realizacji użyła odpowiednich metod badawczych, które umożliwiły uzyskanie przedstawionych wyników. Część badań powinna być przeprowadzona na większej liczbie pacjentów, z zastosowaniem różnorodnych metod badawczych, co umożliwiłoby w przyszłości nie tylko opublikowanie wyników w czasopiśmie o wysokim stopniu oddziaływania (IF), ale podnieść ich znaczenie kliniczne.

Sposób przedstawienia wyników pracy i ich krytyczne omówienie w świetle piśmiennictwa wskazują na umiejętność autorki posługiwania się metodą naukową.

Uwzględniając całość zaplanowanych i wykonanych przez Doktorantkę badań oraz poprawną analizę i interpretację wyników, stwierdzam, iż rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 190 ust. 3, Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie pracy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



*Dr hab. n. med. Tomasz Trzeciak
Kierownik Kliniki Ortopedii
i Traumatologii UMP*