

Słupsk, 25 lipca 2023 r.

Dr hab. Natalia Kurhaluk, prof. UP  
Katedra Biologii  
Instytut Biologii i Nauk o Ziemi  
Uniwersytet Pomorski w Słupsku

### **Recenzja**

**pracy doktorskiej mgr. Rafała Bilskiego pt. „Wpływ pierwiastków chemicznych i wybranych wariantów polimorfizmu genów u chorych z zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa”, napisanej pod kierunkiem dr hab. Piotra Kamińskiego, prof. nadzw. na Wydziale Lekarskim Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu i na Uniwersytecie Zielonogórskim**

#### **1. Podstawa formalno-prawna recenzji pracy doktorskiej**

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Rafała Bilskiego w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk biologicznych została sporządzona zgodnie z zawartą w piśmie przewodnim prośbą o wykonanie recenzji, podpisaną przez Dziekana Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego Prof. dr hab. Beatę Gabryś (z dnia 03 lipca 2023 r.) oraz zastępcę Przewodniczącego Wydziałowej Komisji Doktorskiej dr hab. Katarzynę Baldy-Chudzik, prof. UZ (z dnia 14 lipca 2023 r.).

Zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz z rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora, zadaniem recenzenta przy analizie tego typu prac jest wyjaśnienie, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, czy dowodzi ogólnej wiedzy teoretycznej kandydata w danej dyscyplinie naukowej, a także ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. W aspekcie wyżej wymienionych kryteriów została oceniona rozprawa doktorska mgr. Rafała Bilskiego.

#### **2. Charakterystyka recenzowanej rozprawy**

Recenzowana praca została napisana w języku polskim według tradycyjnego schematu i liczy 277 stron. Manuskrypt zawiera następujące części: wykaz skrótów stosowanych w pracy (2 strony), abstraktu (jedna strona), wprowadzenia (46 stron), celów pracy (jedna strona) oraz następujących rozdziałów: Teren badań, materiały i metody badań (26 stron), Wyniki badań (72 strony w jedenastu

podrozdziałach), Podsumowanie wyników (8 stron), Dyskusja (29 stron) i Wnioski. Na końcu pracy umieszczono Streszczenie w językach polskim i angielskim, Bibliografię (35 stron) oraz wykazy tabel, rycin i fotografii wraz z załącznikami, takimi jak Zgoda Komisji Bioetycznej CM UMK, Ankiety, oświadczenia oraz zgoda uczestników na udział w badaniu (na 39. stronach łącznie).

Opublikowane dotychczas wyniki badań nad przebiegiem reakcji wolnorodnikowych u chorych z zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa (ZZSK) wciąż nie pozwalają kompleksowo ocenić mechanizmów i efektów stresu oksydacyjnego oraz interakcji pierwiastków, a wyniki badań różnych autorów są często niejednoznaczne. W mojej ocenie wyniki badań przeprowadzonych przez mgr. Rafała Bilskiego są interesujące i ważne z naukowego i medycznego punktu widzenia. Są one ważne nie tylko z naukowego, ale i z potencjalnie użytecznego punktu widzenia, ponieważ wskazują na możliwe ich wykorzystanie w dalszych badaniach mechanizmów patologicznych w przebiegu ZZSK. Cenna jest każda inicjatywa badawcza w tym także ta, którą podjął Doktorant, bowiem jesteśmy dopiero na początku drogi w wyjaśnieniu mechanizmów procesów patologicznych u chorych z ZZSK.

Spis literatury został zaprezentowany w porządku alfabetycznym, w przeważającej części zawiera on najnowsze pozycje, z szeroko rozumianego zakresu biologii roli makroelementów, mikroelementów i innych pierwiastków chemicznych w procesach biologicznych, pozycje dotyczące toksycznego działania metali ciężkich, mechanizmów stresu oksydacyjnego oraz obrony antyoksydacyjnej, rozwoju patogenezy reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS), łuszczycowego zapalenia stawów (ŁZS) i ZZSK oraz zagadnień pokrewnych. Wykaz literatury zredagowany został jednolicie i bez błędów, jednak bez numeracji pozycji, co utrudnia czytelnikowi analizę cytowanych bibliografii.

Uzyskane przez Doktoranta wyniki badań zostały rzetelnie poparte danymi literaturowymi i wskazują, że gospodarka pierwiastkowa, obrona antyoksydacyjna, czynniki środowiskowe, aspekty genetyczne oraz czynniki społeczno-psychologiczne są ze sobą powiązane i wspólnie wpływają na rozwój patogenezy RZS, ŁZS i ZZSK. Rozprawa napisana została poprawnym językiem, prostym w odbiorze, a całość tekstu jest spójna i nie zawiera zbędnych treści.

### **3. Ocena znaczenia problemu badawczego i oryginalności jego rozwiązania w rozprawie doktorskiej**

Zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa (ZZSK) jest drugą pod względem częstości, po reumatoidalnym zapaleniu stawów, chorobą zapalną stawów. Częstość występowania choroby w populacji polskiej jeszcze nie została dokładnie określona. W związku z powyższym w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej mgr Rafał Bilski omawia poważny problem kliniczny

i społeczny. Rozpoznanie ZZSK rzadko jest ustalane jeszcze przed wystąpieniem nieodwracalnych zmian kostno-stawowych. Szacuje się, że koszty społeczne związane z odległymi następstwami długotrwałego ZZSK – biorąc pod uwagę, iż ZZSK rozpoczyna się w młodym wieku – są bardzo wysokie. Dlatego wczesne rozpoznanie i wdrożenie postępowania terapeutycznego pozwala zmniejszyć ryzyko trwałego kalectwa. Uważa się, że skutki ZZSK są przynajmniej takie same, jak w przypadku reumatoidalnego zapalenia stawów, o czym można przeczytać w piśmiennictwie naukowym traktującym o tej chorobie (Wiland i in., 2008; Ridan, Berwecki, 2013; Hwang i in., 2021; Mauro i in., 2021). Podjęcie przez Doktoranta badań nad wpływem wymienionych wyżej czynników na rozwój ZZSK należy uznać za przedsięwzięcie bardzo celowe i w pełni uzasadnione.

Przedstawiona przez Autora przekonująca teza dotycząca wyjaśnienia udziału w patologicznych zmianach u chorych na ZZSK czynników środowiskowych i zaburzeń bariery antyoksydacyjnej organizmu poprzez próbę analizy wpływu aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz intensywności procesów peroksydacji lipidów, stężeń 27. pierwiastków chemicznych w powiązaniu z polimorfizmem genów *PTPN22*, *STAT4*, *CTLA4* i *COL1A1* na rozwój zmian chorobowych ZZSK stanowi dowód nowatorskiego podejścia do ich rozwiązania. Poznanie biologicznych mechanizmów leżących u podstaw ZZSK ma zasadnicze znaczenie dla lepszego zrozumienia i leczenia tej choroby.

W przedstawionej rozprawie doktorskiej mgr Rafał Bilski rozwiązuje szereg problemów naukowych związanych z patogenezą i przebiegiem ZZSK, ponieważ etiopatogeneza ZZSK jeszcze nie została w pełni wyjaśniona. Obecnie bierze się pod uwagę rolę wielu czynników, które komplementarnie mogą mieć wpływ na podatność na zachorowanie. Główne znaczenie przypisuje się czynnikom zapalnym, immunologicznym oraz genetycznym. Dlatego przeprowadzenie badań zmierzających do oceny współdziałania wielu czynników, zarówno zewnętrznych [np. środowisko, styl życia, i in. - według *American College of Rheumatology*, 2019], jak i wewnętrznych [dotyczących analizy polimorfizmów genów *CTLA4* (+49 A/G), *STAT4* (rs7574865), *COL1A1* (-1997G>T) oraz *PTPN22* (rs 2476601) z wykorzystaniem PCR-RFLP oraz ustalenie związków poszczególnych genotypów] dla tej jednostki chorobowej, należy uznać za nowatorskie podejście do rozwiązania przedstawionej tezy badawczej.

Na uznanie zasługuje określenie wzajemnych relacji pomiędzy stężeniem pierwiastków chemicznych, zdolnościami obronnymi organizmu i zmianami polimorficznymi w genach u chorych na zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, o których to relacjach jest niewiele doniesień w literaturze naukowej. Analiza znaczenia problemu badawczego i oryginalnego jego rozwiązania została gruntownie zaplanowana w 5. pozycjach celów badań, została zrealizowana w całości w

sposób oryginalny i nowatorski Trzeba zaznaczyć, że oryginalny sposób rozstrzygnięcia badanego problemu przedstawiono z włączeniem chorych ze zdiagnozowanym reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS, n=111), łuszczycowym zapaleniem stawów (ŁZS, n=58) i zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa (ZZSK, n=58). Takie kwalifikowanie pacjentów było podyktowane tym, iż ww. jednostki chorobowe cechuje zbliżona charakterystyka i etiologia, co i stanowiło liczną grupę 227. pacjentów z różnych regionów Polski (grupa kontrolna).

Jednak w przypadku analizy genetycznej dotyczącej polimorfizmu genu *STAT4* w obu grupach nie wykazano poziomu istotności statystycznej, gdyż wartości istotności *p* wyniosły 0.99 i 0.93 odpowiednio dla grupy chorych i kontrolnej. Wnioskiem płynącym z powyższych obliczeń był brak równowagi genetycznej w grupach osób chorych. Głównym czynnikiem decydującym w tej kwestii wydawała się zbyt mała liczebność grup badanych (grupa chorych *n* = 57, grupa kontrolna *n* = 60). Należy wyraźnie zaznaczyć, że pracochłonne i adekwatne do przyjętych celów w pracy podejście Autora umożliwiło wnikliwą analizę statystyczną i dokładne przedstawienie oceny zależności pomiędzy stężeniem wybranych pierwiastków (Na, K, Ca, Mg, Be, Ba, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Al, P, As, Se, Mo, Cd, Sn, Pb, Hg, Li, B, Sr, Sb) a ich wpływem na zaburzenia patogenetyczne w przebiegu ZZSK, na poziome markerów stresu oksydacyjnego w postaci enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPx, GR) oraz na intensywność procesów peroksydacji lipidów (ocenianej jako stężenie dialdehydu malonowego, MDA) osobno w każdej z grup należących do poszczególnych jednostek chorobowych.

#### **4. Ocena zakresu ogólnej wiedzy kandydata w dyscyplinie naukowej Nauki biologiczne**

We „Wprowadzeniu” Doktorant przedstawił wstęp do podjętej w pracy tematyki badań. Autor przedstawił w nim przegląd literatury dotyczącej tematyki chorób stawów o podłożu zapalnym, które stanowią istotny problem współczesnej reumatologii. Doktorant wyjaśnił podłoże molekularne złożoności patomechanizmów ZZSK oraz rozpoznania i jej klinicznego przebiegu (str. 9-17). Treści dotyczące problematyki udziału czynników środowiskowych w przebiegu i rozwoju ZZSK, mianowicie roli mikro- i makroelementów, odgrywających ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu ruchowego, właściwości, objawy niedoboru i nadmiaru wybranych makroelementów i mikroelementów oraz ich funkcje w organizmie, źródła narażenia na oddziaływanie metali toksycznych oraz ich wpływ na zdrowie przedstawiono na str. 18-39 pracy. W podrozdziale "Obrona antyoksydacyjna" Autor przedstawił informacje na temat markerów stresu oksydacyjnego i wymienił elementy obrony antyoksydacyjnej (str. 40-48). W podrozdziale "Udział czynników genetycznych w przebiegu i rozwoju ZZSK" Doktorant opisał polimorfizm genu *CTLA4*,

porównując prawidłową fizjologiczną funkcję CTLA4 i zaburzenia w wyniku wystąpienia polimorfizmu A/G, gen przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji 4 (STAT4), gen COL1A1, oraz fizjologiczną i patofizjologiczną rolę genu PTPN22, który koduje białko zwane limfoidalną fosfatazą tyrozyny, należące do białkowych kinaz tyrozynowych (str. 49-56). Wstęp napisany został w sposób interesujący i przejrzysty, w związku z czym stanowi on bardzo dobre wprowadzenie do dalszej części rozprawy.

W rozdziale szóstym "*Cel pracy*" Autor podał szczegółowo 5 pozycji dotyczących celu podjęcia badań. Cel badań z podziałem na cele szczegółowe pracy jest prawidłowy, jasno sformułowany i interesujący z naukowego punktu widzenia. W mojej opinii cel badań został jasno sformułowany, a jego wybór przekonująco uzasadniony oraz w pełni zrealizowany zarówno w układzie metodycznym, laboratoryjnym, jak i statystycznym. Zaplanowane zadania badawcze, służące realizacji wyznaczonego celu dotyczącego analizy wpływu aktywności enzymów antyoksydacyjnych, procesu peroksydacji lipidów, stężeń pierwiastków chemicznych i polimorfizmów genów PTPN22, STAT4, CTLA4 i COL1A1 na rozwój zmian patologicznych związanych z ZZSK oraz przeanalizowane uwarunkowania środowiskowe, mogące mieć potencjalne znaczenie w rozwoju tej jednostki chorobowej, zostały dobrane w sposób logiczny, a dalsza część rozprawy doktorskiej jest konsekwentnym nawiązaniem do postawionej hipotezy badawczej.

W rozdziale "*Materiał i metody*" Doktorant przedstawił dokładny opis terenu badań, metodyki przygotowania materiału do badań, analiz molekularnych, odczynników i aparatury wykorzystanej w badaniach, metodyki oznaczania stężeń makro- i mikroelementów (ICP-MS), aktywności enzymatycznych antyoksydantów (SOD, CAT, GPx, GR, z zastosowaniem gotowych zestawów Cayman Co.), CP, MDA, izolację genomowego DNA z krwi pełnej, analizę molekularną polimorfizmów genów PTPN22, STAT4, CTLA4 i COL1A. Ważne, że Autor podał limity detekcji aparatury ICP-MS (str. 77) i wymienione certyfikowane materiały odniesienia dla kontroli jakości, co jest bardzo istotne dla takiego typu badań. Doktorant zaznaczył metody statystycznego opracowania wyników w szeroko zakrojonej skali analiz programu Statistica v.10 dla tego typu badań.

Molekularne mechanizmy leżące u podłoża rozwoju RZS, ŁZS i ZZSK nie zostały dotychczas w pełni poznane, jednakże na podstawie wyników badań przedklinicznych i klinicznych, przeprowadzonych w ciągu ostatnich lat, istotną rolę w patogenezie tej choroby przypisuje się stresowi oksydacyjnemu i stanom zapalnym. Mgr Rafał Bilski w rozprawie doktorskiej przedstawił związki pomiędzy potencjalnymi czynnikami warunkującymi te choroby osobno, wyodrębniając w patogenezie każdej jednostki chorobowej rolę czynników środowiskowych. Autor, na podstawie

danych literatury naukowej, liczącej 35 stron cytowanych pozycji bibliograficznych oraz sześciu źródeł internetowych wyjaśnia zasady powiązania chorób ze wzrostem tempa życia i uprzemysłowienia, powodujących zmiany w ekofizjologii organizmów, skutkujące destabilizacją homeostazy, przyczyniające się tym samym do rozwoju chorób o charakterze zapalnym i przewlekłym. Jest to szczególnie ważne, zarówno w wymiarze ekonomicznym, jak i społecznym, ponieważ rozwój ZZSK zaczyna się już w młodym wieku. Wykorzystanie danych literatury i własnych wyników dla analizy i wyjaśnienia profilu zmian oksydacyjnych u osób z RZS, ŁZS i ZZSK może być bardzo korzystne w doborze skutecznej terapii antyoksydacyjnej i zmniejszeniu uszkodzeń oksydacyjnych w warunkach klinicznych.

Analiza statystyczna wyników badań jest prawidłowa i opisana w sposób bardzo jasny. Opis procedur jest wystarczający i zgodny ze standardami naukowymi. Badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy (KB 478/2012).

Rozdział "*Wyniki badań*" (str. 85-157) jest rozdziałem kluczowym dla całej rozprawy. Rozdział ten oraz analiza statystyczna wyników przedstawione zostały w sposób umożliwiający zrozumienie wieloaspektowej pracy badawczej w sposób kompletny, przejrzysty i zrozumiały. Rozdział 11 podsumowuje wyniki badań. W mojej opinii godna pochwały jest analiza związku pomiędzy poszczególnymi wskaźnikami bilansu pro- i antyoksydacyjnego oraz stężeniem pierwiastków chemicznych we krwi osób zdrowych i chorych z różnymi wariantami polimorfizmu genów z zastosowaniem korelacyjnych zależności, jak również i opisu wpływu czynników środowiskowych.

Rozdział "*Dyskusja*" Autor przedstawił w zwięzłej i bardzo czytelnej formie opisu uzyskanych wyników (str. 166-199). W mojej opinii dyskusja prowadzona jest w sposób logiczny, a wnioski (str. 195) dotyczące uzyskanych rezultatów są poprawne i poparte licznymi danymi literaturowymi z ostatnich lat.

Podsumowując, w przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej badaniach, Doktorant wykonał rzetelną analizę statystyczną uzyskanych wyników, przedstawił prawidłową ich interpretację, przeprowadził dyskusję własnych rezultatów na tle odpowiednio dobranego piśmiennictwa ostatnich lat, a także prawidłowo sformułował wnioski merytoryczne, co świadczy o wysokiej ogólnej wiedzy kandydata w dyscyplinie naukowej Nauki biologiczne.

##### **5. Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej w trakcie przygotowania wyników badań i ich prezentacji w dysertacji**

Oceniana rozprawa doktorska dotyczy podejmowanej próby prowadzenia badań nad poznaniem środowiskowych czynników patogenetycznych leżących u podłoża ZZSK. Szczegółowe badania dotyczące poznania molekularnych mechanizmów wpływu polimorfizmów genetycznych mogą dostarczać istotnych informacji o charakterze diagnostycznym oraz pozwolić na opracowanie skutecznych strategii terapeutycznych.

W mojej opinii Doktorant wnikliwie zanalizował zaobserwowane zmiany poziomów pierwiastków chemicznych, m.in. makroelementów, mikroelementów oraz metali toksycznych w powiązaniu z wybranymi czynnikami wewnętrznymi i zewnętrznymi, ocenił stężenia biomarkerów peroksydacji lipidów (dialdehyd malonowy), zinterpretował aktywności enzymów obrony antyoksydacyjnej (tj. dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, reduktazy i peroksydazy glutationowej, ceruloplazminy). Autor wykazał związek pomiędzy tymi parametrami i ich znaczenie predykcyjne, co może przyczynić się do wcześniejszej i trafniejszej diagnostyki chorych na ZZSK oraz do oceny ryzyka wystąpienia złożonego obrazu chorobowego. Całość badań została oryginalnie zaplanowana, a ich przeprowadzenie na tak szeroko zakrojoną skalę wymagało nie tylko sprawności organizacyjnej, np. przy pozyskiwaniu zgody na przeprowadzenie badań i ankietowanie osób chorych i zdrowych, ale przede wszystkim umiejętności laboratoryjnych dotyczących pracochłonnych metodyk biologii molekularnej i analiz genetycznych z uwagi na dużą liczbę analizowanych parametrów chemicznych i biochemicznych.

Zakres prezentowanych badań, dobór metod badawczych oraz sposób analizy i dyskusja wyników świadczą o dużej wiedzy i dojrzałości naukowej Autora. Zasługuje na pochwałę rzetelnie przeprowadzona analiza statystyczna uzyskanych wyników oraz ich prawidłowa interpretacja. Zastosowanie w pracy różnych metod statystycznych niewątpliwie podnosi jej wartość merytoryczną i poszerza możliwości interpretacji wyników. Poza tym zastosowana analiza statystyczna wskazuje na duże umiejętności Doktoranta w posługiwaniu się tymi metodami w opracowaniu i interpretacji wyników. Ważne jest również to, że Autor prawidłowo przeprowadził dyskusję uzyskanych rezultatów na tle dobrze dobranego i bogatego piśmiennictwa, co również świadczy o Jego wysokich umiejętnościach w prowadzeniu pracy naukowej.

Wszystkie rozwiązania zastosowane przez Doktoranta w recenzowanej przeze mnie rozprawie doktorskiej, włącznie z prezentacją wyników badań świadczą o wysokich umiejętnościach samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez mgr. Rafała Bilskiego.

## **6. Inne uwagi**

Pomimo cennych wyników pozyskanych w pracy, widoczne są pewne niedociągnięcia metodyczne i stylistyczne, które wymagają wyjaśnienia:

- 1) Str. 57 pracy, opisująca teren badań, gdzie w podpisie do Ryc. 5 zaznacza się, że „Obszary, z których pobierano materiał do badań. B – obszar bydgoski (województwo kujawsko-pomorskie), G – obszar grudziądzki (województwo pomorskie), S – obszar starachowicki (województwo świętokrzyskie)”. Nie wykluczone, że Autor rozumie pod tym próbki pacjentów z tych terenów, jednak trzeba lepiej to sprecyzować w podpisie do tej ryciny.
- 2) Analiza stopnia antropopresji na podstawie prób uzyskanych od pacjentów z RZS, ŁZS i ZZSK, które pochodziły z regionów o różnym stopniu zanieczyszczenia, mianowicie z okolic Bydgoszczy, Grudziądza oraz Starachowic była przeprowadzona na podstawie indeksu pyłu PM<sub>10</sub> i SO<sub>2</sub>. Nie zaznacza się jednak czy te zmiany były istotne? Czy inne kryteria były brane pod uwagę w celu sprawdzenia różnicowania środowisk? Autor nie zaznacza jakie były odległości pomiędzy miejscowościami, co może znacząco wpływać na jakość powietrza w tych środowiskach i na korelacyjne zależności z uzyskanymi danymi? Autor podaje źródło internetowe, z którego nie całkiem to wynika.
- 3) Zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa należy do chorób przewlekłych, a jej istotą są zmiany zapalne pojawiające się między 15. a 35. rokiem życia, jak zaznaczają w swoich pracach różni autorzy (m.in. Brower i Flemming, 2012). Jednak w rozdziale „Materiały”, w podrozdziale „Przygotowanie materiału do badań” (str. 58) nie został zaznaczony wiek pacjentów z grup kontrolnej i badanej, co mogłoby wyjaśnić wiekowe predyspozycje w przebiegu tej choroby i dołączyć cenne wskazówki odnośnie jej profilaktyki. Dane te Autor włączył do rozdziału „Wyniki badań” (str.85) z podziałem na płeć, wiek, rasę, wykształcenie i miejsce zamieszkania, nawyki żywieniowe oraz nałogi i używki. Statystykę opisową grup badanych lepiej byłoby podać w rozdziale „Materiały i metody”, a opracowanie statystyczne otrzymanych wyników w powiązaniu z innymi otrzymanymi danymi – w rozdziale „Wyniki badań”. Dodatkowo w „Streszczeniu” (str. 197) zaznacza się, że „Do badań włączono osoby pomiędzy 18. a 82. rokiem życia”, co również nie wyjaśnia całości założeń badawczych.
- 4) Za nie całkiem trafne stylistycznie uważam zdanie na str. 58: „Dodatkowo w kontroli z terenów czystych (Bory Tucholskie, Poj. Mogileńskie) (n = 288) analizowano stężenie pierwiastków chemicznych, mechanizm enzymatyczne, CP, intensywność lipoperoksydacji”.
- 5) Wynikająca wieloliczna numeracja typowych dla podobnego rodzaju prac utrudnia czytanie i analizowanie dysertacji. Stąd typowa numeracja rozdziału „Wyniki badań” odpowiada najczęściej czwartej pozycji po „Wstępie”, „Przeglądzie literatury” i „Materiałach i metodach” w



podobnych opracowaniach. W rozprawie doktorskiej Autora ta numeracja rozdziału „Wyniki badań” zwiększa się do pozycji dziesiątej.

- 6) Bardzo często Autor wykorzystuje terminologię tj. „Naturalna bariera antyoksydacyjna” (str. 46, 102, 103). Jakie są przesłanki do wykorzystania tego terminu w rozprawie doktorskiej?

## 7. Ogólna ocena rozprawy doktorskiej

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pt. „Wpływ pierwiastków chemicznych i wybranych wariantów polimorfizmu genów u chorych z zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa” spełnia wszystkie wymogi stawiane dysertacjom doktorskim (na podstawie art. 13 ust. 1 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, z dnia 14 marca 2003 roku. Dz.U. 2017 r. poz. 1789 z późn. zm. oraz Ustawy z dn. 3 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Dz. U. 2018 r. art. 179 poz. 1669 ze zm.) i w pełni uzasadnia ubieganie się przez mgr. Rafała Bilskiego o stopień naukowy doktora nauk biologicznych. Wystawiam zatem pozytywną ocenę recenzowanej przez mnie rozprawy i wnioskuję o dopuszczenie jej autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zważywszy na nowatorskie elementy poznawcze zawarte w recenzowanej pracy, z uwagi na rangę podjętej tematyki badawczej, wysokie kompetencje doktoranta wykazane w tej pracy, zastosowanie złożonych technik badawczych z różnych dziedzin naukowych, umiejętność prowadzenia dyskusji oraz potencjalne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników dla rozwoju badań, zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady Naukowej Uniwersytetu Zielonogórskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Rafała Bilskiego, wykonanej pod kierunkiem naukowym dr hab. Piotra Kamińskiego, prof. nadzw.

Dr hab. Natalia Kurhaluk, prof. UP

