

Wrocław, 16.05.2025r

dr hab. n. med. Agata Sebastian

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Katedra i Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych

Ul. Borowska 213

50-556 Wrocław

Recenzja rozprawy doktorskiej na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych

i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne

lek. Joanny Witoszyńskiej-Sobkowiak

zatytułowanej

**“Wpływ stanu zapalnego na metabolizm tryptofanu
w przewlekłych chorobach reumatycznych”**

Promotorem pracy jest Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Dorota Sikorska

z Kliniki Reumatologii, Rehabilitacji i Chorób Wewnętrznych

Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Otrzymana przeze mnie do recenzji rozprawa doktorska **lek. Joanny**

Witoszyńskiej-Sobkowiak, urodzonej 27.11.1981 roku, oparta jest na cyklu powiązanych monotematycznie prac, który został zatytuowany **„Wpływ stanu zapalnego na metabolizm tryptofanu w przewlekłych chorobach reumatycznych”**. Praca została złożona w celu uzyskania stopnia naukowego doktora nauk medycznych.

Rozprawa jest poprawnie skonstruowana, ma przejrzystą strukturę i odpowiada wymaganiom formalnym stawianym tego typu pracom. Tekst cechuje się logicznym układem,



poprawnością językową oraz starannością edytorską. Styl pracy jest jasny i rzeczowy.

Objętość pracy jest adekwatna do jej zakresu tematycznego.

Cykl recenzowanej rozprawy doktorskiej składa się z trzech artykułów, w tym dwóch prac oryginalnych i jednej pracy przeglądowej. We wszystkich pozycjach Doktorantka jest pierwszym autorem i ma znaczny (wiodący) wpływ w przygotowaniu publikacji. Wszystkie prace były opublikowane w recenzowanych czasopismach. Sumaryczny IF prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi 7.2, a suma punktów za publikacje według listy MNiSW wynosi 240,00 pkt. Projekt uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej numer 623/20 i 578/22.

Ocena merytoryczna

Dobór tematu rozprawy doktorskiej uważam za aktualny. Doktorantka jasno sformułowała cele pracy i właściwie osadziła temat w kontekście aktualnego stanu wiedzy w dziedzinie medycyny. Problematyka poruszana w pracy jest istotna z punktu widzenia praktyki klinicznej oraz nauk podstawowych i w pełni uzasadnia podjęcie badań.

Głównym celem rozprawy była ocena wpływu stanu zapalnego na metabolizm tryptofanu w przewlekłych chorobach reumatycznych. Praca skupiała się na dwóch szczegółowych zagadnieniach:

1. zbadaniu wpływu leczenia biologicznego inhibitorami TNF-alfa na metabolizm tryptofanu u pacjentów z zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa (ZZSK) i reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS);
2. analizie związku między aktywnością choroby, markerami zapalnymi, objawami depresyjnymi a poziomami tryptofanu i jego metabolitów (m.in. serotoniny, kinureniny, kwasu chinolinowego).

Tryptofan, będący aminokwasem egzogennym, jest głównie metabolizowany przez szlak kinureninowy (90–95%), a tylko w niewielkiej części wykorzystywany do syntezy białek (ok. 4%) i serotoniny (1–2%). Główne enzymy inicjujące ten szlak to 2,3-dihydrooksygenaza tryptofanowa (TDO) w wątrobie i 2,3-dioksygenaza indoloaminy (IDO) w tkankach obwodowych i OUN. Ich aktywność regulowana jest przez czynniki zapalne – cytokiny prozapalne zwiększają aktywność IDO, zaś glikokortykosteroidy aktywują TDO. Szlak kinureninowy prowadzi do produkcji różnych metabolitów, takich jak kinurenina, kwas kinureninowy, kwas chinolinowy czy dinukleotyd kwasu nikotynowego (NAD⁺), które mają

szerokie działanie biologiczne – od neurotoksycznego i prozapalnego po neuroprotektoryjne i immunosupresyjne. Równolegle, tryptofan może być przekształcany w serotoninę, głównie w przewodzie pokarmowym, a w mniejszym stopniu w ośrodkowym układzie nerwowym. Serotonina wpływa na liczne funkcje organizmu: nastrój, sen, apetyt, motorykę jelit, krzepnięcie, oraz funkcje poznawcze. Jej niedobór może prowadzić do zaburzeń nastroju, takich jak depresja. W przewlekłych chorobach zapalnych, takich jak RZS i ZZSK, obserwuje się zwiększoną aktywność szlaku kinureninowego, głównie poprzez IDO aktywowaną przez cytokiny ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IFN-}\alpha/\gamma$). To przesunięcie metabolizmu tryptofanu ogranicza jego dostępność dla syntezy serotoniny, co może pogłębiać objawy depresyjne. Metabolity szlaku kinureninowego odgrywają też istotną rolę immunomodulującą – promują powstawanie komórek T regulatorowych, hamują aktywność komórek efektorowych (CD8^+ , NK), zmieniają równowagę między limfocytami Th1/Th2 , i wpływają na szlak IL-23/IL-17 . Efektem jest immunosupresja i immunotolerancja. Chociaż wiadomo, że w chorobach autoimmunologicznych dochodzi do wzrostu aktywności IDO i poziomu metabolitów tryptofanu, nadal niewiele wiadomo o wpływie terapii – zwłaszcza leczenia biologicznego – na ten szlak.

Recenzowana rozprawa doktorska porusza temat kluczowy dla zrozumienia mechanizmów immunologicznych w chorobach reumatycznych – jak zapalenie wpływa na szlak kinureninowy metabolizmu tryptofanu oraz jakie są konsekwencje tego zjawiska dla układu odpornościowego i psychicznego pacjentów. Przedstawiona wiedza podkreśla znaczenie IDO jako potencjalnego celu terapeutycznego oraz wskazuje na potrzebę dalszych badań nad wpływem leczenia (w tym biologicznego) na ten szlak metaboliczny.

W pierwszym artykule z recenzowanego cyklu, będącym pracą oryginalną, Doktorantka skupiła się na wpływie leczenia biologicznego inhibitorami $\text{TNF-}\alpha$ na metabolizm tryptofanu, aktywność choroby i objawy depresji u pacjentów z ZZSK. Podstawą tego badania jest przyjęcie założenia iż $\text{TNF-}\alpha$ stanowi kluczową cytokinę prozapalną odpowiedzialną za aktywację innych mediatorów zapalnych. Nadmiar tej cząsteczki odgrywa istotną rolę zarówno w chorobach autoimmunizacyjnych jak i depresji, która stanowi ważny i niedoszacowany problem w chorobach reumatycznych. To właśnie $\text{TNF-}\alpha$ ma możliwość wpływu na metabolizm tryptofanu, kierując go w stronę szlaku kinureninowego, co w konsekwencji ograniczy produkcję tryptofanu. Dodatkowo niektóre metabolity tego szlaku są neurotoksyczne a inne neuroprotektoryjne. Grupę badaną do tego prospektywnego badania

stanowiło 40 pacjentów z ZZSK i 20 zdrowych ochotników (grupa kontrolna). Pacjentów oceniano przed rozpoczęciem leczenia biologicznego inhibitorem TNF- α i po 6 miesiącach terapii. W dokładnej ocenie uwzględniono aktywność choroby wyrażoną za pomocą kwestionariusza BASDAI i markerów laboratoryjnych stanu zapalnego (CRP, OB), występowanie zaburzeń depresyjnych za pomocą skali depresji Beck'a (BDI) oraz analizę stężenia tryptofanu i jego metabolitów. Po 6 miesiącach terapii odnotowano znaczącą poprawę kliniczną – spadek wartości BASDAI, CRP i OB. Objawy depresji również uległy zmniejszeniu (depresja w BDI: 35% vs 12%). Jednak mimo poprawy stanu klinicznego, nie zaobserwowano istotnych zmian w poziomach tryptofanu, serotoniny, kinureniny i kwasu chinolinowego.

Podsumowując publikacja pogłębia zrozumienie związku między przewlekłym zapaleniem, metabolizmem tryptofanu a objawami sugerującymi depresję u pacjentów z ZZSK. Choć leczenie biologiczne poprawia stan kliniczny i nastrój, nie modyfikuje ono szlaku kinureninowego, co sugeruje istnienie innych, bardziej złożonych mechanizmów wpływających na rozwój depresji w tej grupie pacjentów. Wysoki poziom pracy, aktualność i innowacyjność tematu pozwoliła na wysokie opublikowanie artykułu w renomowanym czasopiśmie (współczynnik IF>5). Chciałabym jednak zwrócić uwagę iż sama skala BDI nie służy do stawiania diagnozy depresji, ale jest narzędziem przesiewowym, które pomaga ocenić nasilenie objawów depresyjnych i pojęcia te nie powinny być stosowane zamiennie.

W drugim artykule, będącym pracą poglądową, Doktorantka podsumowała zaburzenia metabolizmu tryptofanu w chorobach reumatycznych. Publikacja ta stanowi wartościowe kompendium aktualnej wiedzy na temat doktoratu. W sposób usystematyzowany i klarowny omówiono wpływ przewlekłego stanu zapalnego na aktywację szlaku kinureninowego, ze szczególnym uwzględnieniem jego roli immunomodulacyjnej i wpływu na metabolizm kostny. Na szczególne uznanie zasługuje przedstawienie złożonych mechanizmów działania enzymu IDO oraz jego metabolitów – zarówno w kontekście odpowiedzi immunologicznej (regulacji komórek T, wpływu na cytokiny), jak i procesów kostnych (osteoklastogenezy i osteoblastogenezy). W pracy trafnie podkreślono, że aktywacja szlaku kinureninowego może mieć zarówno działanie ochronne, jak i prozapalne – w zależności od kontekstu klinicznego i modelu badawczego. Zestawienie wyników badań w różnych jednostkach chorobowych (RZS, choroba zwyrodnieniowa stawów, osteoporoza, spondyloartropatie zapalne) ukazuje szerokie spektrum oddziaływań tego szlaku i jego potencjalne znaczenie jako celu terapeutycznego. Mocną stroną pracy jest także odniesienie

do wyników badań przedklinicznych, które wnosi cenne spojrzenie na możliwe mechanizmy leżące u podstaw opisywanych zjawisk i realne wykorzystanie w terapii. Uwzględnienie przeciwnych efektów działaniaIDO w różnych modelach zwierzęcych (CIA i K/BxN) podkreśla złożoność i nadal nie w pełni poznaną rolę tego enzymu w patogenezie chorób autoimmunologicznych. Pewnym ograniczeniem publikacji, typowym dla prac przeglądowych, jest brak jednoznacznych wniosków aplikacyjnych. W kilku miejscach wskazano na sprzeczność wyników (np. różnice między badaniami na komórkach mysich i ludzkich), co jednak zostało uczciwie odnotowane i nie umniejsza wartości pracy – przeciwnie, ukazuje potrzebę dalszych badań w tym obszarze. Podsumowując publikacja stanowi rzetelny, dobrze udokumentowany przegląd aktualnej wiedzy na temat wpływu zaburzeń metabolizmu tryptofanu na przebieg chorób reumatycznych. Jest przydatna zarówno dla badaczy zainteresowanych immunologią, reumatologią, jak i dla klinicystów szukających lepszego zrozumienia molekularnych mechanizmów tych chorób.

W ostatniej pracy z cyklu stanowiącej pracę oryginalną, Doktorantka oceniała wpływ leczenia inhibitorami TNF- α na metabolizm tryptofanu szlakiem kinureninowym u pacjentów z RZS. Analizą objęto 30 pacjentów spełniających kryteria kwalifikacji do leczenia biologicznego oraz 20 zdrowych osób (grupa kontrolna). Przed leczeniem i po 6 miesiącach terapii oceniano aktywność choroby, stan zapalny, poziomy tryptofanu, kinureniny, serotoniny oraz stosunek kinureniny do tryptofanu jako miarę aktywności enzymuIDO. Po leczeniu zaobserwowano istotną poprawę kliniczną i spadek markerów zapalnych, jednak nie wykazano wpływu terapii na aktywnośćIDO – stosunek kinureniny do tryptofanu pozostał niezmieniony. Co zaskakujące, pacjenci z RZS mieli niższy stosunek kinureniny do tryptofanu niż osoby zdrowe, co sugeruje obniżoną aktywnośćIDO, wbrew większości dotychczasowych doniesień literaturowych wskazujących na jej zwiększenie. Ponadto stężenia tryptofanu, kinureniny i serotoniny nie korelowały z aktywnością choroby ani markerami stanu zapalnego. Obserwowano niższe stężenie serotoniny u chorych z RZS, co może mieć znaczenie patofizjologiczne, choć wymaga dalszych badań. Wyniki te sugerują, że przemiany tryptofanu w RZS są bardziej złożone i mogą być modulowane przez czynniki niezależne od TNF- α , takie jak dieta czy mikrobiom jelitowy.

Podsumowanie

Podsumowując zastosowane przez Doktorantkę metody badawcze są adekwatne do postawionych hipotez i celów pracy. Badania zostały przeprowadzone z

należyta starannością, zgodnie z zasadami etyki badań naukowych. Dobór próby, opis procedur badawczych są poprawne i uzasadnione. Cele pracy odpowiadają zakresowi cyklu publikacji przedstawionemu w rozprawie.

Przegląd piśmiennictwa jest obszerny, aktualny i zawiera odniesienia do zarówno polskich, jak i zagranicznych publikacji. Doktorantka właściwie zidentyfikowała lukę badawczą, co świadczy o dobrej orientacji w temacie. Wyniki zostały przedstawione w sposób przejrzysty i zrozumiały. Doktorantka zastosowała właściwe metody analizy statystycznej, a interpretacja wyników jest logiczna i spójna z uzyskanymi danymi. Wnioski zostały poprawnie sformułowane i wynikają wprost z przedstawionych wyników. Doktorantka trafnie podsumowała znaczenie swoich badań i wskazała ich możliwe zastosowania praktyczne oraz kierunki dalszych badań. Rozprawa wnosi istotny wkład w rozwój wiedzy w dyscyplinie nauk medycznych. Praca nie zawiera istotnych uchybień merytorycznych ani formalnych. To czego mi jedynie brakuje w recenzowanej rozprawie doktorskiej to graficzne przedstawienie szlaku kinureninowego we wstępie, celem dokładniejszego i przejrzystego zobrazowania poruszanej tematyki cyklu. Pozytywnie oceniam w przedstawieniu rozprawy zebranie na początku skrótów, do których następnie odnosi się Doktorantka oraz przygotowanie przejrzystego spisu treści. Nie stwierdziłam przypadków plagiatu. Ewentualne drobne błędy językowe czy techniczne (kropki, styl numeracji cytowania piśmiennictwa) nie wpływają na ocenę całości rozprawy.

Dodatkowo na koniec pragnę zwrócić uwagę na dotychczasową działalność naukową Doktorantki, która rozpoczęła się już na studiach w ramach kół studenckich i później była kontynuowana. Doktorantka brała czynny udział zarówno w grantach naukowych Ministra Zdrowia („Zapobieganie wtórnym skutkom nadciśnienia tętniczego u dzieci i młodzieży „), jak również wykazała się współpracą międzynarodową (polsko-norweski projekt ADOPOLNOR). Jest także czynnym wykładowcą (m.in. EULAR HOT NEWS w 2022r wykład pt. „Nie tylko aktywność choroby. Wpływ blokady IL-17 na funkcjonowanie pacjentów z axSpA”). To pokazuje, że Doktorantka jest już dojrzałym pracownikiem naukowym i w pełni zasługuje na podstawie prezentowanej rozprawy doktorskiej na przyznanie tytułu naukowego doktora nauk medycznych.

Według mojej opinii rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z tym zwracam się z uprzejmą prośbą do Kapituły Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o



dopuszczenie lekarz Joanny Witoszyńskiej-Sobkowiak do dalszych etapów przewodu
doktorskiego.

Dr hab. n. med. Agata Sebastian
specjalista chorób wewnętrznych

REUMATOLOG
2457180

16.05.2025