

Dr hab. n. med i n. o zdr. Dominika Stygar
Katedra i Zakład Fizjologii
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Zabrze, 15 lipca 2024 roku

Uniwersytet Medyczny
we Wrocławiu

RPW/15922/2024 P
Data:2024-09-06

RECENZJA

Rozprawy na stopień doktora nauk farmaceutycznych

Pani mgr Anny Elżbiety Radajewskiej

pt.: *Poszukiwanie nowych sposobów protekcji nerek w zespole metabolicznym i uszkodzeniu niedokrwiennie-reperfuzyjnym. Pozytywny efekt działania antyoksydantów*

wykonanej pod kierunkiem Pani **dr hab. n. farm. Iwony Bil-Lula, prof. uczelni** w Katedrze
Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

oraz Pani promotor pomocniczej **dr n. farm. Anny Krzywonos-Zawadzkiej**, z Katedry Analityki
Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Przedstawiona do oceny dysertacja Pani mgr Anny Radajewskiej liczy 83 strony, zawiera 7 rycin, 59 pozycji piśmiennictwa. Rozprawa doktorska Pani mgr Anny Radajewskiej składa się z cyklu trzech prac, omawia niezwykle, z etiologicznego, klinicznego a w konsekwencji i terapeutycznego – punktu widzenia, istotne zagadnienia wpływu działania stresu oksydacyjnego oraz oszczędzającego działania związków antyoksydacyjnych w terapii chorób nerki. Zasadniczym celem badań stanowiących podstawę prezentowanej pracy była analiza wpływu działania stresu oksydacyjnego w wybranych patomechanizmach uszkodzenia nerki oraz zbadanie protekcyjnego działania związków antyoksydacyjnych.

Jak zaznaczono, dysertacja grupuje prace oryginalne:

1. **Anna Radajewska**, Anna Krzywonos-Zawadzka, Iwona Bil-Lula. *Recent Methods of Kidney Storage and Therapeutic Possibilities of Transplant Kidney*. Biomedicines. 2022 Apr 28;10(5):1013. doi: 10.3390/biomedicines10051013.

IF = 4.700, MEiN = 100 pkt

2. **Anna Radajewska**, Jakub Szyller, Joanna Niewiadomska, Agnieszka Noszczyk-Nowak, Iwona Bil-Lula. *Punica granatum L. Polyphenolic Extract as an Antioxidant to Prevent Kidney Injury in Metabolic Syndrome Rats*. Oxid Med Cell Longev. 2023 Jan 5; 2023:6144967. doi: 10.1155/2023/6144967.

MEiN = 20 pkt

3. **Anna Radajewska**, Jakub Szyller, Agnieszka Olejnik, Anna Krzywonos-Zawadzka, Grzegorz Sawicki, Iwona Bil-Lula. *Mitoquinone Alleviates Donation after Cardiac Death Kidney Injury during Hypothermic Machine Perfusion in Rat Model*; Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 14772. <https://doi.org/10.3390/ijms241914772>.

IF = 5.600, MEiN = 140 pkt.

Wszystkie trzy artykuły – dwie prace oryginalne i jedna pogładowa - dotyczą wpływu wybranych czynników antyoksydacyjnych na poziom stresu oksydacyjnego indukowanego zespołem metabolicznym lub uszkodzeniem reperfuzyjno-niedokrwinnym. Badania obejmowały także metody ochrony nerki w zespole metabolicznym i podczas transplantacji, z podkreśleniem potencjału terapii antyoksydacyjnej. Spełnione zostały tym samym ustawowe wymogi odnośnie spójności tematycznej publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Wszystkie artykuły są pracami wieloautorskimi, opublikowanymi w czasopismach z listy filadelfijskiej. Łączny współczynnik

Impact Factor cyklu wynosi 10,300. Do rozprawy dołączone są oświadczenia wszystkich współautorów, wskazujące na indywidualny wkład Doktorantki przy opracowaniu koncepcji, wykonaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników poszczególnych prac. Należy zwrócić uwagę, że we wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem.

Przedstawiona praca ma klasyczny układ dysertacji – składa się z następujących rozdziałów: polskie i angielskie streszczenia, opis/wykaz pokazanego, jak na stopień rozwoju kariery naukowej - dorobku naukowego Doktorantki obejmującego 33,6 IF oraz 780 punktów MNiSW potwierdzone wykazem publikacji naukowych, oraz pozostałe osiągnięcia Doktorantki.

We wstępie dysertacji Autorka określa choroby nerek, metody terapeutyczne, w tym transplantację nerki, stres oksydacyjny oraz zespół metaboliczny. Autorka omawia budowę, działanie i zastosowanie Mitoquinonu oraz ekstraktu ze skórek granatu (*Punica granatum* L.) będących przedmiotem badań Doktorantki w modelu *in vitro* oraz *in vivo*.

Następnie Autorka omawia cele i założenia pracy, materiały i metody, omówienie wyników publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, podsumowanie i wnioski, wykaz skrótów i definicji, piśmiennictwo, spis rycin oraz załączniki.

W pierwszej pracy cyklu, pracy przeglądowej, Autorzy przedstawiają obecny stan wiedzy w zakresie dostępnych metod przechowywania nerki w procesie transplantacji, badań nad ulepszeniem procesu przechowywania i perfuzji tego narządu. Omówiono także terapie z wykorzystaniem znanych leków, antyoksydantów, terapii komórkowej i molekularnej. Autorzy przedstawili kierunki rozwoju i wykorzystania technik maszynowej perfuzji.

W drugiej pracy Doktorantka skupiła się na analizie wpływu polifenolowego ekstraktu ze skórek granatu o potencjale antyoksydacyjnym, na uszkodzenie nerki w przebiegu zespołu metabolicznego (MetS). W badaniach wykorzystano zwierzęcy model zespołu metabolicznego, w którym przez 8 tygodni podawano ekstrakt ze skórek granatu. W badaniu wykorzystano dorosłe szczury płci męskiej Zucker Diabetic Fatty posiadające mutację w genie receptora leptyny (ZDF fa/fa), w liczbie 6 osobników w grupie badanej. Grupę kontrolną stanowiły osobniki z mutacją (ZDF fa/fa), którym podawano czystą wodę bez ekstraktu. Grupę zdrowych osobników stanowiły szczury bez mutacji w genie receptora leptyny (ZDF fa/+), które otrzymywały ekstrakt w tych samych stężeniach jak zwierzęta z grupy pierwszej. Zaplanowanie metodologii badania nasuwa pytanie, dlaczego nie włączono do badania grupy kontrolnej dla zwierząt zdrowych. Liczba użytych w eksperymencie zwierząt (n = 6) nie pozwala na przeprowadzenie analizy statystycznej post hoc, co znacząco

organiczna możliwości interpretacji wyników. W pracy Doktorantka badała działanie polifenolowego ekstraktu ze skórek granatu na redukcję stresu oksydacyjnego i aktywność enzymów antyoksydacyjnych, poprzez analizę aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), wartości ROS/RNS, aktywność katalazy (CAT), stężenie glutationu (GSH), stężenie KIM-1 oraz stężenie utlenionej formy LDL (oxLDL), stężenie metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP-2 i MMP-9). Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka wnioskuje, że zespół metaboliczny może wpływać na zwiększony stres oksydacyjny w tkance nerkowej, a w konsekwencji wpływać na uszkodzenie nerek. Ekstrakt z *Punica granatum L.* może mieć działanie antyoksydacyjne i prooksydacyjne, w zależności od stężenia. Przyjmowanie ekstraktu ze skórek granatu może, w zależności od warunków, obniżać stężenie wolnych rodników i modyfikować wewnętrzny system enzymów antyoksydacyjnych. Ostatecznie stwierdzono, że ekstrakt *Punica granatum L.* wykazuje potencjał jako środek leczniczy w przebiegu zespołu metabolicznego, w kontekście ochrony przed ostrym uszkodzeniem nerek oraz w progresji choroby. Pomimo pewnych wątpliwości dotyczących metodologii i konstrukcji grup badanych, które są zresztą w dużej mierze wymienione w dyskusji omawianego artykułu, uzyskane wyniki są interesujące.

W trzeciej pracy (druga badawcza), w której zastosowano model zwierzęcy schematu niedokrwienia nerki badano wpływ leku antyoksydacyjnego mitoquinone - dodanego do płynu perfuzyjnego – na stężenie wybranych markerów uszkodzenia nerki, stresu oksydacyjnego i integralności mitochondriów, takich jak stężenie KIM-1, ROS/RNS, kaspazy 3 i 9, stężenie p-Akt i Akt, aktywność oksydazy cytochromu C. Ponadto, określono procent mitochondriów z nieuszkodzoną błoną komórkową.

We wnioskach pracy Autorka, wraz z zespołem, wykazała ochronne działanie MitoQ na nerki poddane zimnej, maszynowej perfuzji w wybranych grupach badawczych. Zwiększona aktywność oksydacyjna komórek nerki wpływa na pogorszenie stanu narządu w przebiegu zespołu metabolicznego i w nerkach pobranych do transplantacji. Zastosowanie związków antyoksydacyjnych w postaci naturalnych związków (wyciąg ze skórki granatu) oraz syntetycznych środków farmakologicznych (MitoQ) wiąże się z redukcją nasilonego stresu oksydacyjnego i działaniem nefroprotecyjnym.

W tekście rozprawy znajduje się trochę skrótów myślowych, literówek, a tekst nie został całkowicie wyczyszczony z żargonu laboratoryjnego – nie wpływa to oczywiście w żaden sposób na wysoką ocenę rozprawy doktorskiej.

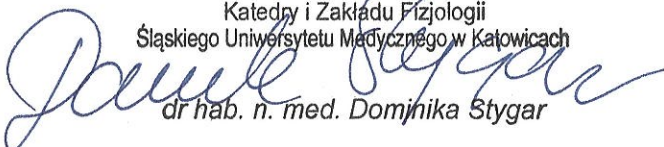
Z pozycji recenzenta, chciałam zwrócić uwagę, że buprenorfina nie jest lekiem znieczulającym tylko analgetycznym. Proponuję uwzględnienie tego faktu i modyfikację protokołu anestetycznego w przyszłych badaniach.

Podsumowując, stwierdzam że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska *autorstwa mgr Anny Radajewskiej spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. Z 2018 r., poz. 1668 ze zm.)*.

Dysertacja Pani mgr Anny Radajewskiej prezentuje adekwatną wiedzę teoretyczną Doktorantki w wybranej przez nią dyscyplinie oraz jej umiejętności prowadzenia pracy naukowej – recenzja jest zatem pozytywna.

W związku z powyższym, mam zaszczyt *wnosić do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Anny Radajewskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.*

Ponadto, biorąc pod uwagę 1) duże znaczenie praktyczne podjętych badań, 2) bardzo obszerny zakres przeprowadzonych badań oraz 3) istotność i jakość uzyskanych wyników, zwracam się do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Radajewskiej.

ADIUNKT
Katedry i Zakładu Fizjologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

dr hab. n. med. Dominika Stygar