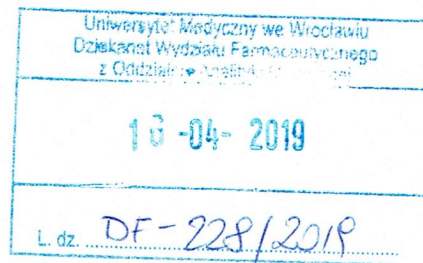


Sosnowiec 13.05.2019

Dr hab. n. med. Barbara Brodziaak-Dopierała  
Katedra i Zakład Toksykologii i Bioanalizy  
41-200 Sosnowiec,  
ul. Jagiellońska 4



Śląski Uniwersytet  
Medyczny w Katowicach

Wydział Farmaceutyczny  
z Oddziałem Medycyny  
Laboratoryjnej  
w Sosnowcu

Katedra i Zakład  
Toksykologii  
i Bioanalizy

41-200 Sosnowiec,  
ul. Jagiellońska 4  
[www.sum.edu.pl](http://www.sum.edu.pl)

tel.: (+48 32) 364 16 31  
fax: (+48 32) 364 16 31  
biotoks@sum.edu.pl

**Ocena dorobku naukowego, działalności dydaktycznej i organizacyjnej oraz osiągnięcia naukowego pt.: „Przydatność oznaczeń aktywności formy 1 paraoksonazy i  $\gamma$ -glutamylotransferazy w ocenie narażenia ludzi na ksenobiotyki” dr n. farm. Anny Bizoń, w związku z toczącym się postępowaniem habilitacyjnym**

Ocena dorobku naukowego, działalności dydaktycznej i organizacyjnej oraz osiągnięcia naukowego dokonano na podstawie dostarczonych dokumentów: autoreferatu, opublikowanych prac naukowych, oświadczeń współautorów prac oraz analizy bibliometrycznej.

### **1. Dane bibliograficzne**

Dr n. farm. Anna Bizoń jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, gdzie w 2003 r. uzyskała tytuł magistra inżyniera biotechnologii ze specjalizacją biotechnologia molekularna i biokataliza. Stopień doktora nauk farmaceutycznych w zakresie toksykologii uzyskała Anna Bizoń w 2010 r na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Od 2009 r. do teraz jest pracownikiem, początkowo asystentem, następnie adiunktem w Katedrze i Zakładzie Biomedycznych Analiz Środowiskowych. Przez jeden rok akademicki była zatrudniona na stanowisku starszego wykładowcy w Państwowej Wyższej Szkole

Zawodowej im. Angelusa Silesiusa w Wałbrzychu w Instytucie Turystyki i Rekreacji na kierunku kosmetologia.

## **2. Ocena dorobku naukowo-badawczego poza osiągnięciem habilitacyjnym**

Dorobek dr n. farm. Anny Bizoń poza cyklem publikacji do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego obejmuje: 21 publikacji (IF=29,577; MNiSW=359) w tym 19 publikacji oryginalnych (3 przed uzyskaniem stopnia doktora) oraz 2 prace przeglądowe, 29 komunikatów (19 komunikatów prezentowanych na międzynarodowych konferencjach i 10 komunikatów na krajowych konferencjach). Warte zwrócenia uwagi jest również współautorstwo podręcznika. Habilitantka w przedstawionych pracach jest pierwszym autorem 9 razy, 11 razy autorem korespondencyjnym, co wskazuje na duży udział jej osoby w prowadzonych badaniach. Deklarowany procentowy udział Autorki w powstałym dorobku był na poziomie od 5 do 70%.

### **2a. Ocena dorobku naukowo-badawczego przed uzyskaniem stopnia doktora**

Działalność naukowo-badawcza dr n. farm. Anny Bizoń w tym okresie dotyczyła opracowania immunoenzymatycznej metody oznaczania stężenia izoformy 1 i 2 metalotioneiny (MT1/2) oraz wykorzystania opracowanej metody do oznaczenia we krwi pacjentów ze stanami zapalnymi trzustki. Wzrost stężenia MT1/2 we krwi stwierdzono we wszystkich grupach pacjentów ze stanami zapalnymi trzustki w porównaniu do osób zdrowych. Oznaczanie stężenia MT1/2 i aktywności Cu/Zn SOD może być przydatne w różnicowaniu stanów zapalnych trzustki.

Analizowany był także wpływ narażenia zawodowego na metale ciężkie oraz palenia papierosów na status antyoksydacyjny we krwi hutników oraz na funkcję nerek poprzez ocenę aktywności N-acetylo- $\beta$ -D-glukozaminidazy (NAG) i jej form w moczu. Zarówno w grupie niepalących, jak i palących hutników stwierdzono podwyższoną aktywność NAG a także jej formy NAG-B, co potwierdza nefrotoksyczny wpływ ekspozycji zawodowej na metale ciężkie. Analizowano także wpływ ekspozycji zawodowej na stężenie MT1/2 i GSH oraz na aktywność Cu/Zn SOD we krwi hutników, jako głównych antyoksydantów biorących udział w neutralizacji wolnych rodników.



Zaobserwowano statystycznie wyższe stężenie MT i GSH oraz podwyższoną aktywność Cu/Zn SOD we krwi hutników, co potwierdza, że ekspozycja zawodowa wynikająca z pracy w hucie zaburza status antyoksydacyjny w organizmie.

## **2b. Ocena dorobku naukowo-badawczego po uzyskaniu stopnia doktora**

Dorobek naukowy dr n. farm. Anny Bizoń po uzyskaniu stopnia doktora jest znaczny w stosunku do poprzedniego okresu. Badania dotyczyły 4 głównych zagadnień:

1. *Oceny biochemicznej metalotioneiny oraz wpływu czynników biologicznych (wiek, płeć, ciąża), środowiskowych (palenie papierosów, przyjmowanie doustnej antykoncepcji hormonalnej) oraz procesu nowotworzenia na jej stężenie.* Analizowano stężenie MT w środowisku wewnątrzkomórkowym (w lizacie erytrocytarnym) i zewnątrzkomórkowym (w osoczu). Potwierdzono wpływ czynników biologicznych oraz środowiskowych na stężenie MT we krwi ludzi. Modulatorami stężenia MT we krwi były: płeć, wiek, ciąża, stosowanie doustnej antykoncepcji hormonalnej oraz narażenie na dym tytoniowy. Stwierdzono ambiwalentną rolę ekspresji MT w procesie karcynogenezy. W zależności od rodzaju nowotworu oraz typu tkanki objętej procesem nowotworzenia zaobserwowano zależność między ekspresją MT a indukcją nowotworzenia, tempem wzrostu guza oraz opornością na zastosowaną terapię.

2. *Ocena wpływu ekspozycji na ksenobiotyki zawarte w dymie tytoniowym na zdrowie matki i płodu.* Wykazano, że ekspozycja na składniki dymu tytoniowego ciężarnych, których ciążę były powikłane IUGR, skutkowałą podwyższonym stężeniem kotyniny oraz Cd i Pb a obniżonym stężeniem Zn we krwi matki i dziecka. Stwierdzono podwyższone stężenie markerów stresu oksydacyjnego: malonyldialdehydu i 8-hydroksy-2-deoksyguanozyny oraz zaburzenie stężenia i aktywności markerów antyoksydacyjnych. Podano też ocenie wpływ palenia papierosów na biometrię płodu oraz parametry morfotyczne pępowiny. Palenie papierosów podczas ciąży powikłanej IUGR, było związane z wieloma anatomicznymi zmianami w pępowinie. Największe zaburzenia stwierdzono w średnich wartościach obwodu główki i brzuszka oraz długości kości udowej u płodów palących ciężarnych z IUGR.

3. *Oceny wpływu ekspozycji zawodowej na metale ciężkie na równowagę pro/antyoksydacyjną we krwi niepalących i palących hutników.* Określono udziału MT oraz



innych nieenzymatycznych oraz enzymatycznych antyoksydantów (GSH, Cu/Zn SOD, GPx, GST) w utrzymaniu równowagi pro/antyoksydacyjnej we krwi hutników narażonych na metale ciężkie i palących papierosy. Oceniano wpływ ekspozycji zawodowej oraz palenia papierosów na funkcje wątroby i nerek poprzez oznaczanie aktywności alanyloaminopeptydazy (AAP) i GGT we krwi oraz aktywność  $\beta$ -glukuronidazy, AAP i stężenie mikroalbumin w moczu. Uzyskane wyniki zaburzeń aktywności enzymów przydatnych w oznaczaniu funkcji nerek i wątroby oraz podwyższone stężenie mikroalbumin w moczu jednoznacznie potwierdziły, że narażenie zawodowe na ołów, kadm i arsen działa nefrotoksycznie i hepatotoksycznie, a palenie papierosów nasila ten stan.

4. *Oceny zaburzeń metabolicznych takich jak nadwaga i otyłość występujących u kobiet z zespołem policystycznych jajników oraz wpływ zaburzeń hormonalnych i metabolicznych na występowanie trądziku pospolitego.* Wykazano, że podwyższone stężenia androstendionu nie wpływały na nasilenie trądziku, natomiast podwyższone stężenie całkowitego i wolnego testosteronu i siarczanu dehydroepiandrosteronu oraz podwyższony współczynnik wolnych androgenów korelowały z nasileniem trądziku u pacjentek.

### **3. Ocena dorobku naukowo-badawczego stanowiącego podstawę wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego**

Dr n. farm. Anna Bizoń do oceny w postępowaniu habilitacyjnym - jako osiągnięcie naukowe - przedstawiła monotematyczny cykl 6 publikacji oryginalnych, z lat 2016-2019, pt. „Przydatność oznaczeń aktywności formy 1 paraoksonazy i  $\gamma$ -glutamylotransferazy w ocenie narażenia ludzi na ksenobiotyki”. Ich sumaryczny wskaźnik IF wynosi 12.472, a punktacja MNiSW=145. W pięciu publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem, w których udział procentowy w tych pracach wynosił od 70 do 80%, a w jednej - trzecim i wówczas udział procentowy wynosił 30%.

Głównym celem badań ujętych w 'cyklu' było badanie wpływu czynników środowiskowych takich jak narażenie na metale ciężkie i dym tytoniowy na aktywność PON1 i GGT we krwi.

Przeprowadzona została wieloparametrowa analiza systemu antyoksydacyjnego we krwi hutników chorujących na cukrzycę oraz wpływ czynników na aktywność GGT. Oceniono wpływ stosowania doustnej dwuskładnikowej antykoncepcji hormonalnej u młodych kobiet



oraz palenia papierosów podczas ciąży u kobiet powyżej 35 roku życia na aktywności PON1, GGT i parametry profilu lipidowego. Przeanalizowano również związek między polimorfizmem genów kodujących PON1 a aktywnościami i stężeniem tego enzymu oraz parametrami profilu lipidowego.

Oceniony został wpływ toksycznych stężeń  $\text{CdCl}_2$ , D-penicylaminy oraz EDTA na aktywność PON1. Wzrost stężenia oznaczanych ksenobiotyków powodował obniżenie aktywności paraoksonazy 1.

W kolejnych badaniach oceniono wpływ narażenia zawodowego na aktywność fosfotriesterazową PON1 i aktywność GGT we krwi niepalących i palących hutników w celu określenia wpływu narażenia na metale ciężkie i dym tytoniowy. Przeanalizowano także wpływ takich czynników jak: wiek, masa ciała, styl życia, staż pracy w hucie. Badania obejmowały 264 hutników oraz 38 mężczyzn jako grupa kontrolna.

Kilkukrotny wzrost stężenia Pb we krwi i As w moczu hutników wywołał około 2-krotny spadek aktywności fosfotriesterazowej PON1, zarówno w surowicy niepalących, jak i palących hutników w porównaniu do osób nienarażonych na metale ciężkie. Również palenie papierosów wpływa hamująco na aktywność PON1, występowała antagonistyczna zależność między stężeniem kotyniny a aktywnością PON1. Zmiany aktywności fosfotriesterazowej PON1 we krwi hutników wywołane spożyciem alkoholu etylowego były zależne od dawki dziennie wypitego alkoholu. Jedynie konsumpcja  $\geq 80$  g alkoholu powodowała spadek aktywności PON1. Pozytywna korelacja między aktywnością PON1 a stężeniem Mg potwierdza ich wzajemny związek oraz ochronną funkcję w przeciwdziałaniu rozwojowi chorób sercowo-naczyniowych i w utrzymaniu stabilności błon komórkowych.

Oceniono również wpływ narażenia na metale ciężkie i ksenobiotyki dymu tytoniowego na aktywność GGT w surowicy hutników. Zarówno w surowicy niepalących, jak i palących hutników wykazano wzrost aktywności GGT w porównaniu do osób nienarażonych na metale ciężkie. W grupie palących hutników zaobserwowano, że wzrost masy ciała wpływał na podwyższoną aktywność GGT w surowicy. Między aktywnością GGT i PON1 zauważono silną, ujemną korelację, gdyż z wiekiem aktywność PON1 ulega obniżeniu.

Habilitantka wykazała przydatność oznaczania aktywności GGT w surowicy hutników z cukrzycą, co potwierdza ponad 2-krotnie wyższa aktywność GGT w tej grupie badanej w stosunku do zdrowych osób z grupy kontrolnej. U hutników z cukrzycą wykazano obniżoną



aktywność cynkowomiedziowej dysmutazy ponadtlenkowej (Cu/Zn SOD) oraz wzrost aktywności peroksydazy glutationowej (GPx). Na wzrost aktywności GPx może wpływać na podwyższone stężenie Pb oraz podwyższone stężenie As w moczu hutników.

Dr n. farm. Anna Bizoń określiła wpływ doustnej, dwuskładnikowej antykoncepcji hormonalnej (COCP) stosowanej przez młode kobiety (średnia wieku 22,6) na aktywność PON1. Zaobserwowano wzrost aktywności aryloesterazowej i laktonazowej PON1 w surowicy w porównaniu do kobiet niestosujących antykoncepcji. Aktywność fosfotriesterazowa PON1 była obniżona. Wykazano istotny wzrost aktywności enzymów: GGT, ALT, AST, u kobiet przyjmujących COCP względem kobiet ich niestosujących. Przyjmowanie egzogennych estrogenów korelowało z obniżonym stężeniem LDL, natomiast stężenie triglicerydów było istotnie wyższe w porównaniu do kobiet niestosujących antykoncepcji. W grupie kobiet stosujących antykoncepcję pomimo młodego wieku ryzyko rozwoju miażdżycy jest większe niż w przypadku kobiet niestosujących hormonalnej terapii. Został oceniony również wpływ narażenia wynikający z dymu tytoniowego na aktywność GGT i PON1 oraz parametry profilu lipidowego i stężenie markera peroksydacji lipidów we krwi kobiet  $\geq 35$  roku życia będących w I trymestrze ciąży. Wykazano, że bierne i czynne narażenie na dym tytoniowy podczas I trymestru ciąży powodowało spadek stężenia HDL przy jednoczesnym wzroście stężenia LDL w porównaniu do niepalących ciężarnych. We krwi aktywnie palących kobiet stwierdzono wyższe stężenie całkowitego cholesterolu i triglicerydów oraz potwierdzono, że narażenie na dym tytoniowy zaburza parametry profilu lipidowego u ciężarnych. Analogiczne zależności zaobserwowano w grupie ciężarnych biernie narażonych na dym tytoniowy. W grupie kobiet palących przed ciążą, zaobserwowano tylko podwyższone stężenie LDL. Obniżone stężenie HDL we krwi narażonych na dym tytoniowy kobiet może wpływać na spadek aktywności fosfotriesterazowej PON1. W grupie palących ciężarnych występował też spadek aktywności aryloesterazowej i laktonazowej PON1 w porównaniu do niepalących ciężarnych. Ujemne korelacje między aktywnościami PON1 a stężeniem Cd i stężeniem kotyniny a aktywnością fosfotriesterazową PON1 potwierdzają negatywny wpływ palenia tytoniu na aktywności PON1.

Habilitantka podjęła się również badań na poziomie molekularnym. Zmiana stężenia i aktywności PON1 może być spowodowana polimorfizmem genetycznym genu kodującego PON1. W przypadku aktywności laktonazowej PON1 żaden z analizowanych w pracy



czynników (polimorfizm L55M, ekspozycja na dym tytoniowy, występowanie nadwagi i otyłości) nie wpływał istotnie na zmiany tej aktywności. Oceniając wpływ palenia papierosów na aktywności PON1, wykazano spadek aktywności fosfotriesterazowej PON1 u palących osób z genotypem LM. Genotyp MM częściej występuje u osób palących niż niepalących. Obniżona aktywność fosfotriesterazowa i aryloesterazowa PON1 we krwi może być związana z niższym stężeniem HDL.

Cykl prac prezentuje cenne i ciekawe spostrzeżenia, takie jak np.:

- Toksyczne stężenia  $\text{CdCl}_2$  spowodowały największy procentowy spadek aktywności fosfotriesterazowej, w przypadku D-penicylaminy - aktywność fosfotriesterazowej, a w przypadku EDTA - aktywność laktonazowa PON1. Porównanie D-penicylaminy oraz EDTA wykazało, że D-penicylamina w zakresie stężeń terapeutycznych jest silniejszym inhibitorem aktywności PON1 niż EDTA.
- Potwierdzono, że ekspozycja zawodowa w hucie wpływa na wzrost aktywności GGT, która korelowała z długością lat pracy w hucie. Podwyższona aktywność GGT w surowicy hutników jest związana zarówno z narażeniem zawodowym i czasem jego trwania, paleniem papierosów i spożyciem alkoholu etylowego. Cukrzyca, ekspozycja na metale ciężkie oraz składniki dymu tytoniowego indukują wielokierunkowe zaburzenia równowagi pro/antyoksydacyjnej, co potwierdza ich negatywne oddziaływanie na organizm człowieka.
- Stosowanie COCP wpływa na status pewnych parametrów we krwi, wzrost aktywności ALT, AST i GGT, zmiany w parametrach profilu lipidowym i w aktywnościach PON1. Sugeruje to, że monitoring funkcji wątroby oraz parametrów profilu lipidowego wydaje się być niezbędny w tej grupie badanej.
- Ekspozycja na ksenobiotyki dymu tytoniowego w I trymestrze ciąży w istotny sposób wpływa na zaburzenia gospodarki lipidowej, w tym na wielkość peroksydacji lipidów, co najprawdopodobniej przyczynia się do zaburzenia aktywności PON1 i GGT.
- Palenie papierosów podczas ciąży podwyższa aktywność GGT i MDA, zwiększa stężenie LDL przy jednoczesnym spadku stężenia HDL, obniża aktywność aryloesterazową, laktonazową i fosfotriesterazową PON1.

- Polimorfizm L55M wpływa na aktywność fosfotriesterazową i aryloesterazową PON1, najniższe aktywności tego enzymu stwierdzono w genotypie MM. U osób z genotypem MM, jak i z genotypem LM oraz z nadwagą i otyłością wykazano około 2-krotnie wyższą aktywność fosfotriesterazową PON1 w porównaniu do osób z tym samym genotypem, ale z prawidłową masą ciała.

Uzyskane wnioski mają charakter aplikacyjny i mogą zostać włączone w diagnostykę kliniczną oraz wykorzystane do dalszych badań naukowych. Opracowanie w mojej opinii jest wyczerpujące, obszerne i wartościowe.

Na podkreślenie zasługują duże umiejętności analityczne dr n. farm. Anny Bizoń, do których należy opracowanie warunków oznaczania trzech aktywności PON1, wykorzystanie technik ultrafiltracji wirówkowej z zastosowaniem odpowiednich membran oraz użycie różnych technik elektroforezy kapilarnej do analizy biochemicznej metalotioneiny.

### **3. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej**

Dr n. farm. Anna Bizoń była wykonawcą grantu promotorskiego w latach 2009-2010. Realizowała 6 projektów badawczych UM im. Piastów Śląskich we Wrocławiu: w 2 była kierownikiem a w 4 – współwykonawcą. W ramach współpracy międzynarodowej uczestniczyła w międzynarodowym grantie jako współwykonawca projektu.

Przy realizacji wyznaczonych celów badawczych Habilitantka współpracowała z różnymi ośrodkami naukowymi w ramach Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z Katedrą i Kliniką Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego; Wydziału Lekarskiego, II Katedrą i Kliniką Ginekologii i Położnictwa, Wydziału Lekarskiego, z Kliniką Endokrynologii Ginekologicznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, z firmą „Synevo” Polska Sp. z o.o. oraz z Uniwersytetem Mendla w Brnie.

W zakresie działalności popularyzujących naukę dr n. farm. Anna Bizoń prowadziła zajęcia w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki.

W 2010 roku otrzymała zespołową nagrodę Ministra Zdrowia. Otrzymała 4 nagrody zespołowe JM Rektora UM im. Piastów Śląskich we Wrocławiu oraz indywidualną nagrodę I stopnia za pracę naukową.



Dr n. farm. Anna Bizoń odbyła 2 dwumiesięczne staże naukowe w Niemczech oraz raz tygodniowy staż na Węgrzech. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego oraz Polskiego Towarzystwa Biochemicznego.

Jako pracownik dydaktyczno-naukowy prowadzi zajęcia z toksykologii, higieny z epidemiologią. Była promotorem 13 prac magisterskich i 2 prac licencjackich realizowanych na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Otrzymała nagrodę JM Rektora UM im. Piastów Śląskich w pracy dydaktycznej, za współautorstwo podręcznika dla studentów Analityki Medycznej pt.: „Toksykologia środowiskowa i kliniczna. Wybrane zagadnienia”.

Uczestniczyła w różnych formach aktywności organizacyjnej na rzecz uczelni i wydziału m. in. w pracach Komisji Rektorskiej, Wydziałowej w latach 2008-2012.

Dorobek naukowy Habilitantki został zauważony przez specjalistów międzynarodowych co przełożyło się na powierzenie Jej łącznie 11 recenzji publikacji w czasopiśmie anglojęzycznych.

#### **4. Podsumowanie i wniosek końcowy**

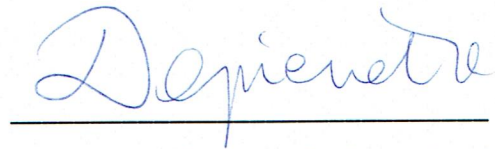
Sumaryczna punktacja całokształtu dorobku naukowego wynosi  $IF= 42,049$  oraz 527 punktów MNiSW. Obserwuje się znaczny wzrost aktywności naukowej po uzyskaniu stopnia doktora  $IF=38,082$ ;  $MNiSW=481$ .

W podsumowaniu, wysoko oceniam dorobek naukowy oraz działalność dydaktyczną i organizacyjną dr n. farm. Anny Bizoń. Jest dojrzałym pracownikiem naukowym, zdolnym do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Osiągnięcie naukowe, przedstawione w cyklu prac, będących podstawą wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego przyczynia się do rozwoju dziedziny nauk farmaceutycznych. Dorobek naukowy dr n. farm. Anny Bizoń jest obszerny i wartościowy, przekłada się to na liczbę cytowani, która wg bazy Web of Science wynosi 146 a Index Hirscha 7.

Całokształt dorobku naukowego, w tym cyklu prac do osiągnięcia naukowego pt.: „Przydatność oznaczeń aktywności formy 1 paraoksonazy i  $\gamma$ -glutamylotransferazy w ocenie narażenia ludzi na ksenobiotyki” oraz dorobku dydaktycznego i organizacyjnego Pani dr n. farm. Anny Bizoń spełniają wymagania określone w Ustawie o stopniach

naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003r. Na tej podstawie, Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, przedstawiam wniosek o dopuszczenie dr n. farm. Anny Bizoń do dalszego postępowania zmierzającego do nadania stopnia doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych.



Dr hab. n. med. Barbara Brodziak- Dopierała