

Dr hab. n. med. Barbara Brodziaż-Dopierała
Katedra i Zakład Toksykologii i Bioanalizy
ul. Ostrogórska 30
41-200 Sosnowiec

Sosnowiec 06.05.2021

Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Wydział Nauk
Farmaceutycznych
w Sosnowcu

Katedra i Zakład
Toksykologii
i Bioanalizy

41-200 Sosnowiec
ul. Ostrogórska 30
www.sum.edu.pl

tel.: (+48 32) 364 16 32
bbrodziak@sum.edu.pl



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Moniki
Oldakowskiej pt. „Analiza związku pomiędzy
stężeniem Cu, Zn a polimorfizmem genów
izoform metalotioneiny oraz dysmutazy
ponadtlenkowej u osób zdrowych oraz pacjentów
z ostrym stanem zapalnym trzustki”**

Przedstawiona do recenzji praca została wykonana w Katedrze i Zakładzie Biomedycznych Analiz Środowiskowych, pod opieką naukową Prof. dr hab. Haliny Milnerowicz jako promotora oraz dr Mileny Ściskalskiej - promotora pomocniczego.

Ostre zapalenie trzustki należy do jednych z częstszych ostrych stanów w gastroenterologii, u 15-20% pacjentów przebiega jako ciężkie zapalenie z powikłaniami zagrażającymi życiu i jest obarczone śmiertelnością. Ostre zapalenie trzustki (OZT) jest ważnym problemem nie tylko w ujęciu klinicznym, ale również społeczno-ekonomicznym. Zachorowalność na OZT w Polsce waha się od 20 do 70 przypadków na 100 tysięcy mieszkańców na rok. Schorzenie to ma związek ze stylem życia: dietą, nawykami żywieniowymi oraz nałogami (picciem alkoholu, paleniem tytoniu). OZT dotyczy ludzi w różnym wieku, również młodych, aktywnych zawodowo, zarówno uprzednio zdrowych, jak i z chorobami towarzyszącymi (choroby pęcherzyka i dróg żółciowych, otyłość, alkoholizm).

Wzmożona ekspresja metalotioneiny (MT) została wykazana w tkankach wielu nowotworów m. in. skóry, płuc, sutka, nerek, pęcherza moczowego, przełyku, pęcherzyka żółciowego i trzustki. Występowała korelacja pomiędzy niekorzystnym przebiegiem choroby nowotworowej a nadekspresją metalotioneiny w wymienionych nowotworach. Zaobserwowano, że nasiloną ekspresją MT wiąże się z agresywniejszym przebiegiem choroby. Spadek aktywności MT obserwowany był w raku wątroby, żołądka, jelita grubego, tarczycy i w nowotworach centralnego układu nerwowego.

Wpływ polimorfizmów genów metalotionein badano w kontekście różnych chorób m. in. zapadalności na cukrzycę typu II czy raka płaskonabłonkowego jamy ustnej. Dlatego słuszny i nowatorski jest kierunek badań, który wybrała Doktorantka w kontekście ostrego zapalenia trzustki.

Praca doktorska przedstawiona do recenzji jest oryginalnym opracowaniem zagadnień związanych z stanem zapalnym trzustki z zakresu gastroenterologii, biologii molekularnej oraz diagnostyki klinicznej i toksykologicznej. Podjęcie się przez Panią mgr Monikę Ołdakowską analizy związku pomiędzy stężeniem Cu, Zn a polimorfizmem genów izoform metalotioneiny oraz dysmutazy ponadtlenkowej jest bardzo cenne z punktu widzenia wielu specjalistów.

Powyższa praca została prawidłowo zaplanowana i przeprowadzona. Zwraca uwagę obszerność rozprawy doktorskiej, jej rozmiar został wymuszony w związku z podjętymi zagadnieniami badawczymi, licznymi parametrami, które zostały uwzględnione. Posiada typowy układ pracy doktorskiej, obejmujący: wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja i wnioski.

Wstęp obejmuje wprowadzenie do tematyki rozprawy doktorskiej - przyczyny rozwoju ostrego zapalenia trzustki oraz typy klasyfikacji. Następnie został przedstawiony wpływ Zn, Cu, Cd na rozwój stresu oksydacyjnego w komórkach trzustki. Opiszana została również szczegółowa budowa oraz funkcja metalotioneiny. Wykazano związek pomiędzy występowaniem polimorfizmów pojedynczego nukleotydu w genach kodujących izoformy metalotioneiny oraz dysmutazy ponadtlenkowej z patogenezą choroby. Opisano współdziałanie metalotioneiny i Cu-Zn dysmutazy ponadtlenkowej w neutralizacji wolnych rodników. Ten rozdział obejmuje 23 strony maszynopisu.

Autorka postawiła 7 głównych celów, które zostały przejrzysto sformułowane. Ostatni cel jest najistotniejszy, jednak aby go osiągnąć konieczna była realizacja celi wymienionych w pierwszej kolejności.

W rozdziale Materiał i metody Doktorantka opisała grupę badaną oraz 2 grupy kontrolne, na podstawie ankiet oraz kwalifikacji przedstawionych w załącznikach. Sumarycznie grupa kontrolna liczyła 143 osoby, obejmowała grupę w wieku 20-30 lat $n=92$ oraz 30-70 lat $n=51$. Grupa badana liczyła 40 osób, co nie jest zbyt dużą liczbą, ale ze względu na częstość występowania OZT i specyfikę badań jest grupą wystarczającą. Dokładnie zostały przedstawione odczynniki oraz metody do oznaczeń immunoenzymatycznych, turbidymetrycznych, spektrofotometrycznych oraz izolacji DNA i techniki PCR-RFLP. Badania zostały przeprowadzone w oparciu o 3 zgody Komisji Bioetycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z roku: 2013, 2018 i 2020. Zastosowane metody statystyczne zostały zwięźle opisane. Testy istotności statystycznej prawidłowo dobrano, nie budzą żadnych zastrzeżeń.

Wyniki stanowią najbardziej obszerny rozdział w rozprawie, zostały opisane na 96 stronach, podzielone na 2 podrozdziały. Jeden z nich opisuje wyniki oceny polimorfizmu genów a drugi pozostałe parametry. Zwraca uwagę duża liczba tabel – 58, jednak są one czytelne i ułatwiają przegląd danych. W grupach kontrolnych Autorka obserwowała 4-krotny wzrost stężenia kadmu u palących w porównaniu do osób nienarażonych, w grupie badanej ten wzrost był 6,3-krotny. Jednocześnie w grupach kontrolnych palaczy obserwowano wzrost stężenia Cu i Zn, w przypadku grupy badanej występuje nieistotny statystycznie wzrost Cu oraz spadek stężenia Zn. Zwraca uwagę stężenie kotyniny u pacjentów z OZT palących tytoń, prawie 2-krotnie większe w odniesieniu do palaczy w grupach kontrolnych. Osoby z OZT wykazały 2-krotny wzrost stężenia SOD1 oraz 2-krotny i 3-krotny spadek stężenia SOD2 i SOD3. Grupa badana charakteryzowała się wzrostem: stężenia markera stresu oksydacyjnego, całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, hs-CRP, IL-6, MT w odniesieniu do osób zdrowych.

W rozdziale Dyskusja zostało wyodrębnione 6 podrozdziałów, które umożliwiły zwięźle przedstawienie tej części rozprawy. Wpłynęło to na bardziej czytelny odbiór pracy, przy dużej liczbie badanych parametrów. Pracę kończy 11 prawidłowo sformułowanych wniosków.

Źródła literaturowe obejmują 214 pozycji, z czego większość (118 pozycji) obejmuje literaturę z ostatnich 10 lat.

Przy lekturze pracy nasunęły mi się następujące uwagi:

Proszę o wyjaśnienie dotyczące grupy kontrolnej, sumarycznie stanowiły ją 143 osoby, obejmowała dwie podgrupy: 20-30 lat oraz 30-70 lat. Osoby w wieku 30 lat do której grupy kontrolnej należały, do I czy II?

W załączniku 3 w Tabeli 1 dla grupy kontrolnej I oraz grupy kontrolnej II przedstawione zostały inne parametry w odniesieniu do opisu przedstawionego w tym załączniku.

Występują różnice w stężeniu kotyniny w Tabeli 1 i Tabeli 6 dla grup osób zdrowych oraz z ostrym zapaleniem trzustki narażonych na dym tytoniowy.

Zwraca uwagę stężenie kotyniny u pacjentów z OZT palących tytoń, prawie 2-krotnie większe w odniesieniu do palaczy w grupach kontrolnych (Tabela 6). Wynika to z większej ilości wypalanych papierosów, co pokazuje liczba paczkolet. Jednak stężenie kotyniny jest również kilkukrotnie większe w grupie pacjentów niepalących z OZT. Czym to mogło być spowodowane?

Sugeruję aby podać nazwy aparatury jakiej użyto do oznaczeń kadmu oraz cynku i miedzi. Będzie to również wymagane przy opublikowaniu wyników.

W pracy występują drobne błędy edytorskie, które należy wyeliminować przy przygotowaniu wyników do publikacji w czasopiśmie:

- skrót przy pierwszej wzmiance powinien być wyjaśniony,
- wyjaśnienie wszystkich stosowanych skrótów,
- stosowanie twardych spacji,
- drobne błędy literowe,
- błędy literowe (np. brak roku w poz. 167) i brak usystematyzowania w spisie literatury, duże litery w tytułach artykułów, występują zarówno pełne tytuły czasopism jak i skróty (należy przyjąć jedną formę zapisu).

Przedstawione uwagi mają charakter pomocniczy i redakcyjny, w żaden sposób nie umniejszają dużej wartości merytorycznej i praktycznej pracy, wymagają jedynie drobnych poprawek edytorskich.

Rozprawę doktorską mgr inż. Moniki Ołdakowskiej oceniam bardzo wysoko. Należy podkreślić dojrzałość naukową Autorki, umiejętność zaplanowania badań, prawidłową analizą wyników oraz rzetelną dyskusję. Praca stanowi istotny wkład w poszerzenie wiedzy na temat związku pomiędzy stężeniem Cu, Zn a polimorfizmem genów izoform metalotioneiny oraz dysmutazy ponadtlenkowej u pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki. Badanie zostało

przeprowadzone w sposób kompleksowy. Potwierdzeniem mojej oceny jest dorobek naukowy Doktorantki, w postaci 1 publikacji związanej z tematyką pracy doktorskiej z wysokim wskaźnikiem IF=5,014 oraz 2 pozostałych publikacji o łącznym IF=4,342.

W mojej opinii przedstawiona do recenzji praca odpowiada wymogom stawianym pracom doktorskim, określonym w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tj. Dz. U. z 2017r., poz. 1789). Zatem zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie mgr inż. Moniki Ołdakowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

ADIUNKT

Katedry i Zakładu Toksykologii i Bioanalizy
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach


dr hab. n. med. Barbara Brodziak-Dopierała

Dr hab. n. med. Barbara Brodziak-Dopierała