

Prof. dr hab. n.med. Maria Wardas  
Wydział Medyczny  
Górnośląska Wyższa Szkoła Handlowa  
W Katowicach

#### Recenzja rozprawy doktorskiej

pt. **„Wpływ cisplatyny i doksorubicyny na układ prooksydacyjno/antyoksydacyjny oraz na ekspresję białka p53 w komórkach gruczolaka płuca *in vitro*”** wykonanej przez lek. med. Katarzynę Jędrzejowską w Zakładzie Żywienia Człowieka Katedry Dietetyki Wydziału Zdrowia Publicznego w Bytomiu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

W patogenezie choroby nowotworowej istotnym czynnikiem, jak wynika z wielu doniesień w piśmiennictwie, jest naruszenie równowagi pro i anty oksydacyjnej komórek. Zakłócenie wspomnianej równowagi prowadzi do pojawienia się stresu oksydacyjnego a efektem tego są uszkodzenia organizmu na poziomie molekularnym, komórkowym i tkankowym. Stres oksydacyjny związany ze zmianami stężeń reaktywnych form tlenu w komórce skutkuje również zmianami aktywności komórkowych enzymów antyoksydacyjnych oraz pojawianiem się produktów reakcji wolnorodnikowych np. dialdehydu malonowego. Dobrym i wiarygodnym modelem do badań nad stresem oksydacyjnym są hodowle komórkowe, w tym również hodowle komórek nowotworowych. Ocena wpływu preparatów farmakologicznych na hodowane *in vitro* komórki była w przeszłości i zapewne jeszcze nie raz będzie istotnym czynnikiem prognostyczno-diagnostycznym. Wobec powyższego nie tylko podjęty w recenzowanej pracy problem ale i sposób jego realizacji uważam za w pełni zasadny.

Dziesięciostronnicowy wstęp rozprawy zawiera wystarczające informacje dotyczące zarówno raka płuca jak i badanych w pracy leków oraz stresu oksydacyjnego. Nadrzędnym celem pracy była ocena wpływu dwóch cytostatycznych leków Cisplatyny i Doksorubicyny na hodowle komórkowe ludzkiego gruczolaka płuca linii A549 w aspekcie zmian w układzie prooksydacyjno-antyoksydacyjnego komórek.

Cel pracy Doktorantka ujęła w trzech punktach, precyzując w nim jakie parametry będą oznaczane.

W rozdziale „Materiały i Metody” na 6 stronach Doktorantka opisała metodę prowadzenia hodowli komórkowych oraz analizę biochemiczną badanego materiału. Hodowle komórek nowotworowych ludzkiego gruczolaka linii A549 prowadzono w sposób standardowy na pożywce Dulbecco’s wzbogaconej płodową surowicą wołową w 6% atmosferze CO<sub>2</sub> w tem. 37<sup>o</sup>C. Ekspozycja komórek nowotworowych na badane cytostatyki trwała 72 godz. Cytostatyki słusnie dodawano w identycznych trzech stężeniach odpowiednio 0,0125 mg/ml, 0,025 mg/ml i 0,05 mg/ml.

W uzyskanym materiale biologicznym oznaczano : aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i jej izoenzymów ( mitochondrialnego i cytoplazmatycznego ), katalazy, peroksydazy glutationowej, transferazy S-glutationowej i reduktazy glutationowej. Oznaczano również stężenie dialdehydu malonowego oraz przeprowadzono analizę ekspresji genu kodującego białko p53.

Opis stosowanych metod biochemicznych jest zwięzły i słusnie ogranicza się do podanie zasady każdej metody oraz odpowiedniego odnośnika literaturowego. Uważam , że dobór metod jest właściwy i pozwolił Doktorantce na zrealizowanie założonego celu pracy.

Wyniki Doktorantka przedstawiła na 18 stronach, ilustrując je 16 wykresami, 1 diagramem i 8 tabelami. Opracowanie statystyczne wyników oraz ich opis i prezentacja nie budzą żadnych zastrzeżeń.

Uzyskane wyniki zostały właściwie zinterpretowane w dziesięciostronicowej dyskusji. Dyskusja napisana jest w sposób dojrzały, Doktorantka własne wyniki konfrontuje z wynikami innych autorów co pozwala Jej na właściwą ocenę i próbę tłumaczenia obserwowanych zmian aktywności oznaczanych enzymów, które to zmiany zachodzą pod wpływem różnych stężeń badanych cytostatyków. Dowodem na zakłócenie równowagi prooksydacyjno/antyoksydacyjnej pod wpływem stosowanych cytostatyków są również stwierdzone zmiany stężenia dialdehydu malonowego.

Pod koniec dyskusji Doktorantka, w oparciu o szereg cytowanych publikacji, odnosi się do roli

białka p53 w stresie oksydacyjnym, brakuje jednak jasnego odniesienia do własnych wyników. Pracę kończą 3 w pełni uzasadnione wnioski w których Doktorantka stwierdza, iż obydwie badane cytostatyki naruszają, aczkolwiek w różny sposób, status oksydacyjny badanych komórek oraz hamują ekspresję białka p53.

Na końcu pracy zamieszczono streszczenie polskie i angielskie, a na początku bardzo szczegółowy wykaz stosowanych w pracy skrótów.

Z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na kilka zauważonych uchybień. Zapewne pomyłką jest zdanie w wstępie na stronie 17 wiersz 5 od dołu w którym Autorka pisze „ Reaktywne formy tlenu, RFT (.....) to związki posiadające niesparowany elektron na powłoce walencyjnej .. “. Niesparowany elektron na powłoce walencyjnej posiadają tzw „ wolne rodniki ” które oczywiście są reaktywnymi formami tlenu, ale nie wszystkie reaktywne formy tlenu są wolnymi rodnikami. Przykładami mogą być nadtlenek wodoru (  $H_2O_2$  ) i ozon (  $O_3$  ), które są RFT a nie są wolnymi rodnikami ponieważ nie posiadają niesparowanego elektronu. Zauważyłam kilka literówek np. str.12 wiersz 12 od dołu „cispatyna” zamiast „ cisplatyna” i np. brak wyrazu „zródłem” str. 18 wiersz 10 od dołu. Wskazane drobne uchybienia nie ujmują wartości recenzowanej rozprawie doktorskiej , którą oceniam bardzo dobrze ponieważ oprócz aspektu biochemicznego może implikować określone aspekty terapeutyczne.

**Wobec powyższego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Zdrowia Publicznego w Bytomiu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o dopuszczenie Pani lek. med. Katarzyny Jędrzejowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a w przypadku opublikowania pracy o jej wyróżnienie.**

30. 06. 2016.

Stefi Wodas