



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku

Klinika Dermatologii i Wenerologii  
Kierownik: dr hab. n. med. Iwona Flisiak

Żurawia 14, 15-540 Białystok  
tel.: 085 740 95 70, fax: 740 94 06  
e-mail: dermatol@umb.edu.pl

MEDICAL UNIVERSITY OF BIALYSTOK

Department of Dermatology and Venereology  
Head: Prof. Iwona Flisiak, M.D.

14, Zurawia St. 15-540 Białystok, POLAND  
tel.: +48 85 740 95 70, fax: 740 94 06  
e-mail: dermatol@umb.edu.pl

Białystok, 7.11.2019

## Recenzja

### pracy doktorskiej mgr Małgorzaty Bartold-Kuryś:

### „Wpływ różnych dawek preparatu WPC-80 na zmiany wywołane metronidazolem w nieuszkodzonej skórze starych szczurów”.

**Promotor: dr hab. prof. Małgorzata Knaś**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska obejmuje 87 stron tekstu w klasycznym układzie, w tym 18 rycin, 15 tabel i 98 pozycji piśmiennictwa w większości z ostatnich lat. Cenny, z punktu widzenia czytelnika jest zamieszczony na początku pracy wykaz użytych skrótów w alfabetycznej kolejności.

Metronidazol – jest chemioterapeutyką z grupy pochodnych nitroimidazolu. Mikroorganizmy wrażliwe na działanie tych leków to drobnoustroje beztlenowe (bakterie oraz pierwotniaki). Stosowany jest zarówno w schorzeniach ogólnoustrojowych jak i miejscowych. Dostępne są różne postacie leku: tabletki, roztwory do infuzji oraz kremy, żele i emulsje. W dermatologii najczęściej stosowany jest miejscowo w trądziku różowatym, zapaleniu okołoustnym, ale wykorzystywany jest też w postaciach podawanych ogólnie w innych chorobach ogólnoustrojowych. Aby chemioterapeutyk zadziałał skutecznie, musi osiągnąć w miejscu zakażenia stężenie niezbędne do zahamowania wzrostu lub zabicia drobnoustroju chorobotwórczego, a równocześnie stężenie to musi pozostawać bezpieczne dla ludzkich komórek. Metronidazol to znany od wielu lat, ceniony i chętnie stosowany lek. Ograniczeniem jego zastosowania jest występowanie działań niepożądanych. Koncentrat białek serwatkowych (WPC) zawiera 80% białka zwierzęcego, węglowodany, nasycone i nienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy, minerały oraz czynniki wzrostu i cytokiny. WPC wykazuje liczne korzystne działania w organizmach żywych m.in. antyoksydacyjne, immunomodulujące, a

WPLYNĘŁO DO BZIEKANATU  
Wydziału Nauk o Zdrowiu

dnia 08.11.2019

Ambrosej

także przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe. Celem pracy była ocena wpływu metronidazolu na wybrane parametry nieuszkodzonej skóry starych szczurów oraz ocena wpływu różnych dawek WPC-80 na te parametry. Badania procesów zachodzących w skórze prowadzone na modelu zwierzęcym pozwalają na dokładniejsze wniknięcie w mechanizm działania leku i umożliwiają poszukiwanie innych substancji czy ich połączeń zwiększających bezpieczeństwo leku. W konsekwencji badania takie prowadzą do stworzenia nowych preparatów o lepszych własnościach fizykochemicznych, a co za tym idzie większe bezpieczeństwo i skuteczność leczenia. Dlatego uważam że temat pracy jest, aktualny, trafny i w pełni uzasadniony.

Wstęp jest rozbudowanym i wielowątkowym omówieniem zagadnień leżących u podłoża badań. Doktorantka szczegółowo omawia charakterystykę białek serwatkowych, ich skład a także rozliczne funkcje które zostały już potwierdzone badaniami naukowymi. W dalszej części wstępu mgr Małgorzata Bartold-Kuryś charakteryzuje metronidazol, wskazania do jego zastosowania oraz działania niepożądane. Doktorantka przybliży również podstawy budowy i fizjologii skóry szczura, zwracając uwagę na podobieństwa do funkcji skóry człowieka. Ważnym podrozdziałem wstępu jest część dotycząca metaloproteinaz, które mają swój udział m.in. w procesie przebudowy i degradacji macierzy międzykomórkowej, hormonów, receptorów, cytokin i chemokin oraz czynników wzrostu. Autorka omawia również rolę dysmutaz ponadtlenkowych oraz katalazy jako enzymów mających właściwości antyoksydacyjne, biorących udział w procesie eliminacji wolnych rodników oraz zahamowanie rozwoju stresu oksydacyjnego. Wstęp jest obszerny i stanowi w pełni wyczerpujące wprowadzenie czytelnika do badań własnych Doktorantki.

Założenia i cel pracy zostały przedstawione w sposób jasny. Doktorantka ocenia wpływ metronidazolu na wybrane parametry nieuszkodzonej skóry starych szczurów. Dodatkowo założeniem badania było badanie wpływu różnych dawek preparatu koncentratu białek serwatkowych WPC-80 na te same parametry nieuszkodzonej skóry starych szczurów poddanej działaniu metronidazolu. W konsekwencji badanie miałoby wykazać czy stosowanie preparatu WPC-80 ma działanie ochronne podczas leczenia meronidazolem. Założone cele badawcze doktorantka realizuje skrupulatnie w dalszych etapach pracy co wskazuje na jej umiejętność samodzielnego planowania prac badawczych.

Badanie zostało przeprowadzone na czterech grupach 14-miesięcznych samców szczurów szczepu Wistar. Każda grupa składała się z 8 osobników. W pierwszej grupie badano skórę szczurów zdrowych, w drugiej skórę szczurów którym podawano wyłącznie metronidazolu. W kolejnych dwóch grupach poza zastosowaniem metronidazolu równocześnie podawano dożołądkowo preparat WPC-80 w różnych dawkach. Metronidazol był podawany dożołądkowo w dawce 100 mg/kg mc. przez 7 dni. Po zastosowanym leczeniu pobierano fragmenty skóry grzbietu szczurów w celu oceny wybranych parametrów. Do oznaczeń użyto płynu nadosadowego z

homogenatu pełnej grubości skóry. Oceniono całkowitą zawartość białka oraz metaloproteinazę 2 (MMP2), metaloproteinazę 3 (MMP3), tkankowy inhibitor 2 metaloproteinaz (TIMP2), tkankowy inhibitor 3 metaloproteinaz (TIMP3), dysmutazę ponadtlenkową 2 (SOD2), dysmutazę ponadtlenkową 3 (SOD3), katalazę (KAT) oraz kolagen 1 (KOL1) i kolagen 3 (KOL3). Należy tu szczególnie podkreślić, że doktorantka włożyła wiele trudu w tak rozbudowane badania. Zostały one przeprowadzone z użyciem różnorodnych technik i oceniały różne parametry będące wskaźnikami w procesie przebudowy i degradacji macierzy międzykomórkowej oraz potencjału oksydoredukcyjnego skóry.

Opis metod badawczych nie budzi zastrzeżeń jest jasny i całkowicie poprawny. Analiza statystyczna została przeprowadzona przy użyciu poprawnie dobranych metod i testów.

Wyniki pracy zostały zebrane i przedstawione w 10 tabelach i na 10 rycinach. Ta bogata forma graficzna wraz z ich dokładnymi opisami słownymi ułatwia czytelnikowi podążanie za myślą przewodnią pracy oraz zrozumienie jej rozbudowanych założeń. Doktorantka potwierdziła, że podanie metronidazolu szczurom powoduje istotny statystycznie wzrost stężenia metaloproteinazy 2 oraz metaloproteinazy 3 w porównaniu do grupy kontrolnej oraz spadek stężenia tkankowego inhibitora metaloproteinaz 2, spadek stężenia tkankowego inhibitora metaloproteinaz 3, spadek stężenia dysmutazy ponadtlenkowej 2, spadek stężenia katalazy. Jednoczesne podawanie szczurom, przez 7 dni, metronidazolu wraz z koncentratem białek serwatkowych WPC-80, w dawce 0,5mg/kg masy ciała, powodowało istotny statystycznie spadek stężenia metaloproteinazy 2 oraz spadek stężenia tkankowego inhibitora metaloproteinaz 2 w porównaniu do skóry zwierząt, którym podawano metronidazol oraz wzrost całkowitej zawartości białka. Wyniki wskazują na ochronne działanie preparatu WPC-80 w stosunku do wybranych parametrów. Skrupulatne i jasne przedstawienie wyników świadczy o uważności badawczej Doktorantki a także dogłębnym zrozumieniu tematu.

Dyskusja nad wynikami stanowi dość obszerny podrozdział pracy. Mgr Małgorzata Bartold-Kuryś w sposób dojrzały i krytyczny interpretuje otrzymane wyniki. Odniesienia do danych literaturowych wskazują na swobodne poruszanie się w tematyce pracy i dowodzą dojrzałości naukowej Doktorantki. Rozprawę kończy 5 wniosków, które odzwierciedlają wyniki przeprowadzonych przez doktorantkę badań. Za szczególną wartość pracy uważam przeprowadzenie badań na modelu zwierzęcym, który w przeciwieństwie do badań u ludzi daje możliwość uzyskania powtarzalnych i wiarygodnych warunków. Co więcej badania Doktorantki mają charakter nowatorski. Białka uzyskane z serwatki dopiero od niedawna budzą zainteresowania medycyny ze względu na ich antyoksydacyjne i anaboliczne właściwości. Przeprowadzone przez doktorantkę badania mogą mieć ciekawe implikacje kliniczne i być może znajdą kiedyś zastosowanie praktyczne. Wyniki wskazują z jednej strony na możliwość ochronnego wpływu koncentratu białek serwatkowych WPC-80 podczas leczenia

metronidazolem a z drugiej, dodatkowo potwierdzają wpływ WPC-80 na całkowitą zawartość białka w skórze.

Bogate i trafnie wyselekcjonowane piśmiennictwo, oparte głównie na publikacjach anglojęzycznych z ostatnich lat świadczy o dogłębnej analizie zagadnień związanych przeprowadzonym badaniem.

Podsumowując pracę doktorską mgr Małgorzaty Bartold-Kuryś oceniam pozytywnie. Mam nadzieję, że cenne, z punktu widzenia klinicysty wyniki przeprowadzonych przez doktorantkę badań, zostaną wykorzystane do przygotowania publikacji. Całość pracy wskazuje na dojrzałość naukową doktorantki. Nieliczne błędy językowe i literowe nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

Dysertację doktorską mgr Małgorzaty Bartold-Kuryś pt.: „Wpływ różnych dawek preparatu WPC-80 na zmiany wywołane metronidazolem w nieuszkodzonej skórze starych szczurów”, wykonaną pod kierunkiem Pani Promotor: dr hab. prof. Małgorzaty Knaś oceniam pozytywnie. Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska spełnia wszystkie wymogi określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003r Nr 65, poz 565 ). Wnoszę do Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Małgorzaty Bartold-Kuryś do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Hanna Myśliwiec  
specjalista dermatolog-wenerolog  
8893619

*Hanna Myśliwiec*