



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, 07.11.2019

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Karoliny Niedziółko-Bagniak:

„Produkty oksydacji w skórze starych szczurów poddanych działaniu diety wzbogaconej aminokwasami”

Promotor: dr hab. prof. Małgorzata Knaś

Stres oksydacyjny jest procesem wielopłaszczyznowym i polega na wystąpieniu zaburzeń, czy braku równowagi pomiędzy wytwarzaniem a neutralizowaniem w komórce reaktywnych form tlenu i reaktywnych form azotu. Zaburzenia w procesie redukcji, mogą prowadzić do powstania nadtlenków i wolnych rodników, które w konsekwencji prowadzą do oksydacji białek, lipidów oraz DNA. Efekty działania stresu oksydacyjnego zależą od jego zasięgu; większe komórki mogą sobie poradzić z lokalnymi małymi perturbacjami i odzyskać pierwotny stan. Jednakże większy stres oksydacyjny może spowodować śmierć komórki. Podejrzewa się znaczącą rolę stresu oksydacyjnego w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych, sercowo-naczyniowych a także w uszkodzeniach związanych z kaskadą ischemiczną powstającą w wyniku reperfuzji następującej po hipoksji. Prawdopodobnie wiąże się też z procesami starzenia nie tylko skóry, ale i całego organizmu. W ostatnich latach prowadzi się wiele badań mających na celu ocenę wpływu antyoksydantów zarówno w leczeniu różnych chorób, jak i w szeroko rozumianej profilaktyce procesu starzenia. Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska dotyczy wpływu diety wzbogaconej białkami serwatkowymi na stres oksydacyjny. Praca obejmuje 79 stron tekstu w klasycznym układzie, w tym 12 rycin, 12 tabel i 81 pozycji piśmiennictwa w większości z ostatnich lat.

Koncentrat białek serwatkowych (WPC) zawiera 80% białka zwierzęcego, węglowodany, nasycone i nienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy, minerały oraz czynniki

WPLYNEŁO DO BIUREKANATU
Wydziału Nauk o Zdrowiu

dnia 08.11.2019

M. Ambroży

wzrostu i cytokiny. WPC wykazuje liczne korzystne działania w organizmach żywych m.in. antyoksydacyjne, immunomodulujące, anaboliczne, a także przeciwcukrzycowe i przeciwnowotworowe. Celem pracy była ocena wpływu diety wzbogaconej o preparat WPC-80 na wybrane parametry oksydacji w skórze starych szczurów. Rolą medycyny jest nie tylko leczenie chorób, nie mniej ważna jest też ich profilaktyka. Polskie społeczeństwo jest jednym z najchętniej stosujących różne suplementy diety, które zazwyczaj z profilaktyką chorób ma niewiele wspólnego. Uważam, że prowadzenie wiarygodnych badań dotyczących wpływu diety oraz dodatków żywieniowych na procesy fizjologiczne, w tym również na procesy oksydacji jest bardzo ważny. Dlatego myślę, że temat pracy jest, aktualny, trafny i w pełni uzasadniony.

Wstęp jest rozbudowanym i wielowątkowym omówieniem zagadnień leżących u podłoża badań. Doktorantka szczegółowo omawia proces stresu oksydacyjnego, jego fizjologię, przyczyny powstawania wolnych rodników, a także różne produkty oksydacji białek, lipidów i DNA. W dalszej części wstępu mgr Karoliny Niedziółko-Bagniuk przedstawia charakterystykę białek serwatkowych, ich skład a także rozliczne funkcje, które zostały już potwierdzone w badaniach naukowych. Doktorantka prezentuje w tabeli 6 skład WPC który warunkuje szerokie spektrum działania preparatu. Myślę, że warto byłoby tu po każdym z przedstawionych działań przytoczyć pozycję z piśmiennictwa, ułatwiłoby to osobom zainteresowanym dotarcie do konkretnej pracy źródłowej. Wstęp jest obszerny i stanowi w pełni wyczerpujące wprowadzenie czytelnika do badań własnych Doktorantki. Doktorantka uzyskała zgodę nr 2011/40 na przeprowadzenie powyższych badań od Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Białymstoku.

Założenia i cel pracy zostały przedstawione w sposób jasny. Doktorantka ocenia wpływ różnych wariantów diety wzbogaconej aminokwasami na wybrane produkty oksydacji białek, lipidów i materiału genetycznego nieuszkodzonej skóry starych szczurów. W konsekwencji badanie ma na celu wyjaśnienie czy stosowanie preparatu WPC-80 ma ochronny wpływ na procesy prowadzące do stresu oksydacyjnego w skórze. Założone cele badawcze doktorantka realizuje skrupulatnie w dalszych etapach pracy co wskazuje na jej umiejętność samodzielnego planowania prac badawczych.

Badanie zostało przeprowadzone na pięciu grupach 14-miesięcznych, dojrzałych płciowo samców szczurów szczepu Wistar. Każda grupa składała się z 8 osobników. Pierwsza grupa stanowiła grupę kontrolną i nie podlegała interwencji leczniczej. W kolejnych grupach szczurom podawano różne stężenia preparatu WPC-80 0,3 lub 0,5 mg/kg mc, przez różne długie czasy 7 lub 14 dni. Następnie pobierano fragmenty skóry grzbietu szczurów w celu oceny wybranych parametrów. Do oznaczeń użyto płynu nadosadowego z homogenatu pełnej grubości skóry. Oceniono: całkowity status oksydacyjny, stężenia produktów peroksydacji

lipidów: kompleksów 4-hydroksynonenalu i 8-izoprostanów, stężenia produktów oksydacji białek: zaawansowanych produktów oksydacji białek oraz stężenia produktów oksydacji DNA: 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny. Doktorantka oceniała również stężenie wszystkich białek skórnych. Należy szczególnie podkreślić, że doktorantka włożyła wiele trudu w tak rozbudowane badania. Zostały one przeprowadzone z użyciem różnorodnych technik i oceniały różne parametry będące wskaźnikami stresu oksydacyjnego w skórze.

Opis metod badawczych nie budzi zastrzeżeń jest jasny i całkowicie poprawny. Otrzymane wyniki poddano wnikliwej analizie statystycznej przy użyciu metod nieparametrycznych i trafnie dobranych testów. Obliczenia statystyczne przeprowadzono w oparciu o pakiet statystyczny Statistica 10.0.

Wyniki pracy zostały zebrane i przedstawione w 6 tabelach i na 6 rycinach. Przedstawienie wyników w formie graficznej wraz z ich dokładną interpretacją i opisami słownymi ułatwia czytelnikowi podążanie za myślą przewodnią pracy oraz zrozumienie jej rozbudowanych założeń. Mimo, że Doktorantka nie stwierdziła wpływu podaży WPC-80 na całkowity stres oksydacyjny, to jednak potwierdziła iż podawanie dawki 0,5 mg/kg m.c. przez 14 dni powoduje istotny spadek stężenia 4-hydroksynonenalu i 8-izoprostanów, produktów utleniania białek, 8-hydroksyguaniny, przy jednoczesnym wzroście stężenia całkowitej zawartości białka w skórze badanych szczurów. Inne stężenia WPC -80 oraz podawanie preparatu przez krótszy czas miało podobny wpływ choć mniej wyrażony w wartościach liczbowych.

Wyniki wskazują na ochronne działanie preparatu WPC-80 w stosunku do większości badanych parametrów. Efekt wydaje się być zależny od dawki i czasu stosowania preparatu. Skrupulatne i jasne przedstawienie wyników świadczy o uważności badawczej Doktorantki a także dogłębnym zrozumieniu tematu.

Dyskusja nad wynikami stanowi dość obszerny podrozdział pracy. Mgr Karolina Niedziółko-Bagniuik 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. Autorka dość szeroko omawia podłoże stresu oksydacyjnego wraz z rysem historycznym oraz konfrontuje wyniki z dostępnym piśmiennictwie, choć nie jest ono bogate, ze względu na nowatorski wybór tematu. Interesująca dyskusja świadczy o dogłębnej analizie zagadnień związanych przeprowadzonym badaniem.

Rozprawę kończą 4 wnioski, sformułowane w oparciu o uzyskane wyniki i odpowiadające celom pracy. Szczególną wartością pracy jest 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. Biorąc pod wagę nacisk kładziony w ostatnich latach na przeciwdziałanie procesom starzenia, przeprowadzone przez doktorantkę badania mogą mieć w niedługim czasie zastosowanie praktyczne. Wyniki wskazują z jednej strony na możliwość ochronnego wpływu koncentratu białek serwatkowych WPC-80 w procesach oksydacji a z drugiej, dodatkowo potwierdzają wpływ WPC-80 na całkowitą zawartość białka w skórze.

Piśmiennictwo, obejmujące 81 pozycji, zostało właściwie dobrane i umiejętnie przytoczone. Oparte jest ono w większości na publikacjach anglojęzycznych z ostatnich lat. Cenny, z punktu widzenia czytelnika jest zamieszczony na początku pracy wykaz użytych skrótów w alfabetycznej kolejności oraz spis tabel i rycin zamieszczony na końcu pracy. W całości praca została napisana poprawnie pod względem stylistycznym. Z błędów edytorskich zwraca uwagę niezgodność numerów stron z rzeczywistymi stronami pracy. Z drobnych uwag, które warto uwzględnić podczas przygotowania wyników pracy do publikacji warto zmniejszyć ryciny by zyskać na ich ostrości. Pojedyncze błędy literowe nie wpływają na wartość merytoryczną pracy. Mam nadzieję, że wartościowe wyniki przeprowadzonych przez doktorantkę badań, zostaną wykorzystane do przygotowania publikacji.

Dysertację doktorską mgr Karoliny Niedziółko-Bagniuk pt.: „Produkty oksydacji w skórze starych szczurów poddanych działaniu diety wzbogaconej aminokwasami”, 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 Karoliny Niedziółko-Bagniuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

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

Hanna Myśliwiec