

Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Wpływ akrylamidu, kationów magnezu i cynku na parametry morfologiczne krwi oraz status antyoksydacyjny w wybranych narządach myszy” wykonanej przez mgr Magdalenę Semlę-Kurzawa w Zakładzie Fizjologii Zwierząt i Toksykologii Instytutu Biologii Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie pod kierunkiem Prof. UP dr hab. Grzegorza Formickiego

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Magdaleny Semli-Kurzawa, porusza niezwykle istotny i aktualny problem wpływu akrylamidu oraz jonów magnezu i cynku, doskonale wpisuje się swoją tematyką w nurt aktualnych badań nad jego oddziaływaniem, prowadzonych przez wiele ośrodków naukowych.

Wyniki badań epidemiologicznych do chwili obecnej nie dostarczyły bezsprzecznych dowodów potwierdzających zależność pomiędzy pobraniem akrylamidu z pokarmem, a wzrostem ryzyka zachorowalności na nowotwory u ludzi. Pomimo dodatnich wyników badań nad rakotwórczym charakterem akrylamidu przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych, które wykazały że związek ten wywołuje nowotwory wielu organów takich, jak tarczyca, jądra, płuca czy skóra, nie wykazano takiego działania na organizm człowieka. Istnieją natomiast wiarygodne dowody naukowe potwierdzające neurotoksyczne działanie akrylamidu na organizm. Długotrwałe narażenie na działanie akrylamidu może powodować nieodwracalne uszkodzenia ośrodkowego oraz obwodowego układu nerwowego, zarówno u ludzi, jak i u zwierząt.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje 158 stron maszynopisu, w którym tekst pracy zilustrowany jest 5 rycinami, 14 tabelami, 54 wykresami oraz 72 mikrofotografiami.

Układ pracy jest poprawny i typowy dla dysertacji doktorskich. Rozpoczyna się wstępem, zawierającym również uzasadnienie i cel pracy, dalej następują po sobie materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz cytowanej literatury oraz spisy: rycin, tabel, wykresów i fotografii. Wyniki eksperymentu Doktorantka przeanalizowała na tle specjalistycznej, adekwatnie cytowanej literatury w liczbie 265 pozycji, z których 101 obejmuje okres ostatnich 10 lat.

Ocena merytoryczna pracy

Wstęp:

W rozbudowanym 20-stronicowym wstępie Autorka omawia metabolizm ksenobiotyków, ich biotransformację i oddziaływanie na mierzalne biomarkery. Szczególną uwagę zwraca na kliniczne aspekty ich oddziaływania na wątrobę, nerki, śledzionę i układ krwiotwórczy. Opracowanie zawiera również najnowsze informacje na temat chemicznych i cytotoksycznych właściwości akrylamidu [AA]. Istotną rolę w cytotoksyczności AA odgrywa między innymi układ oksydacyjno-redukcyjny. Źródłem wolnych rodników są głównie jednoelektronowe reakcje utleniania i redukcji, a ksenobiotyki działają w organizmie dopóki ich wolnorodnikowe formy nie zostaną unieczynnione przez mechanizmy detoksykacyjne. Ważnym procesem, w którym istotną rolę odgrywają reaktywne formy tlenu jest zjawisko apoptozy, która jest indukowana między innymi przez obniżenie aktywności mechanizmów antyoksydacyjnych. Doktorantka przedstawiła także rolę jonów magnezu i cynku w funkcjonowaniu organizmu.

Należy podkreślić, że we wstępie widoczna jest nie tylko bardzo dobra znajomość problematyki z bardzo dobrym cytowaniem piśmiennictwa ale także jasny sposób przedstawienia złożonych problemów leżących na pograniczu nauk podstawowych i klinicznych. Dla lepszego zrozumienia zagadnień Autorka zamieściła czytelne ryciny.

Z tego wprowadzenia wylania się jasno cel rozprawy, poprawnie sformułowany w którym Autorka postanowiła w badaniach *in vivo* i *in vitro* prześledzić wpływ łącznego oddziaływania akrylamidu oraz jonów magnezu i cynku na równowagę oksydacyjno-redukcyjną. Prowadzone badania mogą być pomocne w znalezieniu prostych metod wspomagania detoksykacji a także ochrony organizmu przed toksycznym działaniem AA.

Doktorantka wykazała się dobrą znajomością metodologii badań poprzez prawidłowe sformułowanie hipotez badawczych oraz wyznaczenie celów roboczych do weryfikacji tych hipotez.

Aby powyższe cele zrealizować, wykonała następujące badania:

- dokonała analizy parametrów morfologicznych krwi, tj. stężenia leukocytów, limfocytów, erytrocytów, hemoglobiny oraz hematokrytu myszy;
- zbadała stężenie GSH i aktywność enzymów antyoksydacyjnych tj. SOD, GSH-Px i CAT w wątrobie, nerkach i śledzionie myszy;
- określiła stężenie MDA w wątrobie i nerkach oraz ekspresję Kaspaz-3 w wątrobie, nerkach i śledzionie myszy;
- oceniła aktywność wybranych enzymów wątrobowych, przeżywalność komórek szpiku kostnego oraz zmiany strukturalne w wątrobie, nerkach oraz śledzionie myszy po podaniu AA i kationów Mg^{2+} oraz Zn^{2+} .

Tak zaplanowany eksperyment umożliwił Doktorantce pełną weryfikację założonych hipotez.

Materiał i metody:

W rozdziale tym Doktorantka w sposób szczegółowy opisuje wszystkie procedury badawcze i nie budzą one większych zastrzeżeń. Badania zyskały pozytywną ocenę Komisji Etycznej ds. Badań na Zwierzętach, zostały bardzo dobrze zaplanowane i pozwalają na kompleksową ocenę wpływu akrylamidu oraz jonów magnezu i cynku na status antyoksydacyjny w wybranych tkankach myszy. Do zastosowanych metod analizy statystycznej nie mam zastrzeżeń.

Mam jednak kilka uwag i pytań do Autorki

1. W tabelach 2 str 33 i 3 str 36 i później także w tekście Doktorantka używa określenia „grupa badawcza” w odniesieniu do zwierząt, które zazwyczaj stosuje się do osób przeprowadzających badania. Proponuje zmianę określenia na „grupa badana”.
2. Czy wątroba była poddawana perfuzji przed homogenizacją, w celu usunięcia nadmiaru krwi, której obecność może wpływać na wynik stężenia oznaczanego glutationu?
3. Według czyjej metody oznaczano stężenie MDA?
4. Proszę o uzasadnienie liczebności 6-7 osobników w grupie badanej. Czy taka liczba myszy jest wystarczającą do przeprowadzenia analiz statystycznych?

Omówienie wyników:

Pragnę podkreślić, iż oceniana rozprawa doktorska wyróżnia się ilością prezentowanych wyników, które zostały przedstawione na 59 stronach dysertacji. Wskazuje to na ogromny nakład pracy Doktorantki w celu zrealizowania wcześniejszych założeń pracy. Wyniki zostały przedstawione zgodnie z powszechnie przyjętą konwencją w formie tekstu, tabel, zdjęć i wykresów. Należy podkreślić, że nie zawierają one powtórzeń i wzajemnie się uzupełniają tworząc logiczny opis osiągniętych rezultatów. Mam jednak kilka uwag:

1. Przy zdjęciach obrazu histopatologicznego badanych tkanek brak jest wielkości powiększenia mikroskopu.
2. W którym z badanych narządów Autorka stwierdziła największe zmiany badanych parametrów po podaniu akrylamidu ? Brakuje mi końcowego porównania.

Dyskusja dobrze napisana, zawiera interpretację uzyskanych wyników na podstawie obszernej, specjalistycznej, adekwatnie dobranej i aktualnej literatury. Autorka wykazała się bardzo dobrą znajomością problemów związanych z tematyką pracy, rzeczowością i umiejętnością krytycznej interpretacji swoich wyników. Zaletą pracy jest również sformułowanie tylko 5 logicznych prawidłowo zredagowanych wniosków, wynikających z rozumowania zaprezentowanego w dyskusji.

Do najważniejszych osiągnięć omawianej pracy zaliczam:

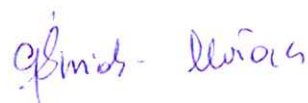
1. Wybór ciekawej naukowo tematyki badawczej.
2. Wszechstronne przebadanie oddziaływania akrylamidu na organizm i wykazanie, że jest groźną toksyną o działaniu ogólnoustrojowym.
3. Wykazanie korzystnego wpływu na zdrowie diety bogatej w jony Mg^{2+} i Zn^{2+} u osób mających złe nawyki żywieniowe. Dieta może zmniejszać toksyczne efekty oddziaływania AA.

Dodatkowo, pragnę podkreślić, iż oceniana rozprawa doktorska wyróżnia się różnorodnością zastosowanych analiz, sposobem ich prezentacji oraz interesującą oprawą graficzną. Napisana jest logicznie, co niewątpliwie świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym i dojrzałości naukowej Doktorantki.

Zauważone uchybienia, nie umniejszają wartości i oceny merytorycznej pracy, którą oceniam wysoko..

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca, spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim zawarte w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. (Dz.U. 2003 numer 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) o tytułach i stopniach naukowych i z całym przekonaniem stawiam wniosek Wysokiej Radzie Wydziału Geograficzno-Biologicznego Uniwersytetu Pedagogicznego im Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Semli-Kurzawa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z uwagi na wysoką wartość merytoryczną rozprawy doktorskiej, wzbogacającej naszą wiedzę dotyczącą wpływu akrylamidu na organizm wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Geograficzno-Biologicznego Uniwersytetu Pedagogicznego o jej wyróżnienie.



Grażyna Świdorska -Kończak