



Łódź, dnia 4 maja 2016

**Ocena pracy doktorskiej magistra Roberta Żółtaszka  
p.t. „Modulacja wybranych biomarkerów przez pochodne kwasu glukarowego w chemicznie  
indukowanych nowotworach”.**

Oceniana praca doktorska mgra Roberta Żółtaszka poświęcona jest mechanizmowi przeciwnowotworowego i przeciwzapalnego działania pochodnych kwasu D-glukarowego w procesie chemicznie indukowanej karcynogenezy. Praca ta jest kontynuacją wieloletnich badań dotyczących różnych aspektów biologii nowotworów prowadzonych przez promotora dysertacji Panią prof. Zofię Kiliańską.

Obiektem badań były naturalne metabolity kwasu D-glukonowego i kwasu D-glukarowego takie jak: glukaran wapnia, D-glukaro-1,4-lakton, D-glukurono-gamma-lakton i D-glukono-1,5-lakton. Celem pracy było zbadanie wpływu wymienionych wyżej metabolitów na proces chemicznie indukowanej karcynogenezy w skórze i płucach myszy. Choroby nowotworowe skóry i płuc należą do jednych z częściej występujących nowotworów ludzi, a udział karcynogenów chemicznych w ich etiologii jest dobrze udokumentowany. Rozwój nowotworów indukowanych środowiskowymi karcynogenami zależy nie tylko od intensywności ekspozycji na te patogeny, ale również od wydajności systemów obronnych organizmu. Jednym z takich systemów jest detoksykacja kancerogenów i ich wydalanie w formie koniugatów kwasu glukuronowego. Obniżenie wydajności wydalania glukuronidów wynikające np. z nadmiernej aktywności  $\beta$ -glukuronidazy, enzymu hydrolizującego koniugaty, skutkuje podwyższeniem ryzykiem powstawania wielu pospolicie występujących nowotworów.

Pochodne kwasu glukarowego wykazują wpływ na przebieg detoksykacji karcynogenów i dlatego uważam, że Doktorant podjął prace nad ważnym zagadnieniem, gdyż związany z globalnym rozwojem przemysłu wzrost zanieczyszczenia środowiska powodujący coraz większe narażenie na karcynogeny wymaga intensyfikacji badań zmierzających do obniżenia częstości zapadania na chemicznie indukowane nowotwory.

Założenia i cel pracy zostały precyzyjnie sformułowane i uzasadnione w oparciu o wcześniejsze osiągnięcia Zespołu, jak również o wyniki badań innych ośrodków. Podstawą rozprawy jest zestaw trzech monotematycznych publikacji artykułów oryginalnych oraz jeden artykuł przeglądowy omawiający biologiczną rolę kwasu D-glukarowego i jego metabolitów.

Ponieważ wyniki pracy zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach znajdujących się na Liście Filadelfijskiej, pomijam opis zastosowanych metod badawczych i wymienię najbardziej istotne wyniki dysertacji. Należą do nich:

1. Opracowanie modelu karcynogenezy chemicznej nowotworów skóry wykorzystującego 6-7 tygodniowe myszy, którym aplikowano na skórę karcynogenną pochodną antracenu (DMBA) i kondensat dymu tytoniowego.
2. Wykazanie, że DMBA i kondensat dymu tytoniowego wywołuje zależną od dawki hiperplazję naskórka myszy.
3. Stwierdzenie, że oba badane karcynogeny zwiększały w sposób zależny od dawki ekspresję dekarboksylazy ornitynowej, której produktem jest stymulująca podziały komórkowe putrescyna.
4. Wykazanie, że zaprzestanie ekspozycji myszy na badane karcynogeny powodowało zwolnienie podziałów komórek naskórka.
5. Udowodnienie, że zarówno D-glukaro-1,4-lakton jak i lakton kwasu D-glukuronowego zwalniają szybkość proliferacji komórek naskórka myszy eksponowanych na działanie DMBA.
6. Wykazanie, że D-glukaro-1,4-lakton hamuje ekspresję niektórych markerów stanu zapalnego.
7. Stwierdzenie, że sposób podawania badanych laktonów (miejscowo lub w diecie) ma znacznie dla ich efektu na anty-proliferacyjnego i efektu przeciwzapalnego.
8. Przedstawienie szeregu danych świadczących o korzystnym antynowotworowym działaniu glukaranu wapnia, który podany myszom z rozpoczętym procesem chemicznej indukcji nowotworów płuc, obniża poziom cytokin prozapalnych przy jednoczesnym podwyższeniu poziomu cytokin przeciwzapalnych.
9. Wykazanie, że podany myszom w diecie glukaran wapnia obniża aktywność  $\beta$ -glukuronidazy i szybkość proliferacji komórek, a podwyższa jednocześnie ekspresję podjednostek niektórych białek stymulujących apoptozę.

Uzyskane wyniki pozwoliły Doktorantowi na sformułowanie interesujących wniosków:

- Obecność glukaranu wapnia w diecie myszy, którym zaaplikowano chemiczny karcynogen indukujący nowotwory płuc może zapobiegać rozwojowi nowotworu poprzez zmniejszenie szybkości proliferacji komórek oraz indukcję ich apoptozy.
- Dieta z wysoką zawartością pochodnych kwasu D-glukarowego w warzywnych i owocowych produktach spożywczych może być stosowana jako czynnik zapobiegający rozwojowi nowotworów, a także w ich leczeniu.

Muszę w tym miejscu zwrócić Autorowi uwagę, że wniosek podany w streszczeniu pracy jako pierwszy jest właściwie krótkim opisem niektórych wyników, dlatego tego wniosku w recenzji nie wymieniłem. Pozostałe dwa są moim zdaniem logicznie wyprowadzone z uzyskanych wyników i podoba mi się, że Autor sformułował je lakonicznie, dzięki czemu są bardzo jasne. Podsumowując wartość naukową pracy doktorskiej mgra Żółtaszka stwierdzam, że dostarczył on nowych naukowych danych na temat mechanizmu prewencyjnego działania diety warzywnej w rozwoju nowotworów, a w szczególności poszerzył naszą wiedzę o biologicznym działaniu pochodnych kwasu D-glukarowego. Sądzę, że nie muszę tej opinii szczegółowo uzasadniać, ponieważ rozprawa ma formę zbioru czterech monotematycznych artykułów opublikowanych w recenzowanych czasopismach. Ich sumaryczny 5-letni wskaźnik cytowań wynosi 8,945, a suma punktów MNiSW 90. Dowodzi to, że wyniki badań Doktoranta zostały dobrze ocenione przez kilku anonimowych ekspertów pracujących dla renomowanych czasopism.

W dokumentacji towarzyszącej rozprawie doktorskiej znajduje się wykaz publikacji z opisem prac, które Doktorant wykonał w ramach danego artykułu wraz z określonym jego procentowym udziałem. Udział ten waha się od 50% do 75%. Wszystkie badania, które zostały wykonane w ramach recenzowanej rozprawy przebiegały z udziałem wielu autorów, którzy przygotowali oświadczenia opisujące ich udział w każdej z publikacji. Wniosuję, więc, że wkład Doktoranta w badania stanowiące podstawę jego pracy doktorskiej jest bardzo znaczny.

Nie mam uwag krytycznych odnośnie zastosowanych metod, opisu wyników, dyskusji i wymienionych wcześniej wniosków pracy. Zauważyłem jednak błąd w opisie przemian soli wapniowych i potasowych kwasu D-glukarowego zamieszczonym na stronie 7 streszczenia. Autor napisał w tym miejscu, że kwas D-glukarowy ulega w środowisku wodnym hydrolizie do dwóch laktonów. Rozumiem, że chodzi o fakt ustalania się równowagi między laktonami, a kwasem D-glukarowym. Jednakże to laktony hydrolizują do kwasu, a nie odwrotnie. Znalazłem także niefortunne określenie dotyczące kwaśnego środowiska żołądka użyte dwukrotnie w pracy przeglądowej. Autor użył terminu „kwaśne pH”, należało napisać niskie pH lub kwaśne środowisko. Wymienione potknięcia edytorskie są jednakże mało istotne wobec wartości merytorycznej pracy.

## **Wniosek końcowy**

Uważam, że rozprawa doktorska Pana mgra Roberta Żółtaszka jest dziełem samodzielnym i oryginalnym, w którym Autor dowiódł, że potrafi prowadzić badania naukowe realizując założony program i osiągać zamierzone cele. Wykazał równocześnie, ważną w naukach eksperymentalnych, umiejętność pracy w zespole i skuteczność w publikowaniu uzyskanych wyników badań.

Moim zdaniem oceniana rozprawa spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim przez Ustawę o Stopniach i Tytułach Naukowych i przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego wniosek o dopuszczenie Pana mgra Roberta Żółtaszka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Stawiam również wniosek o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej. Wyróżniającym się elementem rozprawy jest wykazanie, że kwas D-glukarowy i jego pochodne obniżają szybkość proliferacji komórek naskórka myszy eksponowanych na chemiczne karcynogeny, co sugeruje, że dieta bogata w te związki może być czynnikiem prewencyjnym w rozwoju niektórych typów nowotworów. Bardzo ważnym jest również fakt, że całość pracy została opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.



Prof. dr hab. n. med. Leszek Szmigiero