



Kraków 27.02.2019r

Ocena

rozprawy doktorskiej **Pani mgr Magdaleny Olbert**, doktorantki Zakładu Radioligandów
Wydziału Farmaceutycznego Katedry Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM
w Krakowie

pt. „**Ocena działania przeciwzapalnego nanocząstek tlenku cynku w modelu in vivo i in vitro**”

Celem przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej było zbadanie właściwości przeciwzapalnych nanocząstek tlenku cynku w warunkach jednoczesnego stosowania ketoprofenu u szczurów. Dodatkowo działanie to było porównywane do efektów przeciwzapalnych tlenku cynku zastosowanego w formie standardowej w tych samych warunkach eksperymentalnych.

Przedstawiona do oceny rozprawa posiada nową formułę i składa się z czterech spójnych tematycznie publikacji o charakterze badawczym oraz jednego rozdziału w monografii, które zostały opublikowane w latach 2017-2018. Łączny IF prac będących podstawą rozprawy doktorskiej wynosi 4,068 a punktacja MNiSW - 56 pkt. Rozprawa doktorska zawiera ponadto autoreferat obejmujący wprowadzenie do tematu i założenia teoretyczne projektu badawczego (I), opis celów przeprowadzonych badań *in vivo* i *in vitro* (II), metodykę badań (III), opis uzyskanych wyników (IV) oraz dyskusję i podsumowanie (V).

Oceniając tę część rozprawy należy zwrócić uwagę na bardzo precyzyjnie opracowany wstęp, w którym Doktorantka krótko ale bardzo rzeczowo przedstawiła ogólne wiadomości dotyczące procesów zapalnych, właściwości przeciwzapalnych, antyoksydacyjnych jak i gastroprotekcyjnych cynku. Kolejno Doktorantka zdefiniowała pojęcie nanocząstek i opisała właściwości i wykorzystanie nanocząstek tlenku cynku. Sposób przedstawienia dostępnych danych z literatury przedmiotu świadczy o dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki.

Pozytywnie oceniam również rozdział V autoreferatu (Dyskusja i podsumowanie) w którym Doktorantka trafnie wybrała najistotniejsze osiągnięcia własne i umiejętnie skonfrontowała je z danymi dostępnymi w literaturze proponując jednocześnie potencjalne



mechanizmy mogące leżeć u podstawy obserwowanych efektów. Dyskusja jest zwięzła, merytoryczna i wskazuje na duże umiejętności analityczne Doktorantki jak również łatwość w przedstawianiu własnych przemyśleń.

Doktorantka dla realizacji zaplanowanych w rozprawie celów przeprowadziła badania *in vivo* pozwalające na: a) oznaczenie aktywności przeciwbrzękowej [wg metody Wintera i wsp. (1962) w teście karageninowym] tlenku cynku w formie nanocząsteczkowej jak i standardowej, podawanych zarówno dootrzewnowo jak i dożołądkowo; b) określenie działania gastroprotekcynowego obu form tlenku cynku według metody Komatsu i wsp. (1973); c) ocenę zawartości cynku oraz miedzi, magnezu i wapnia w próbkach surowicy szczurów.

W badaniach *in vitro* z wykorzystaniem komórkowego modelu zapalenia indukowanego lipopolisacharydem Doktorantka oceniła działanie nanocząstek tlenku cynku na poziom białek prozapalnych metodą Western blot. Wykorzystane do realizacji założonego w rozprawie celu w/w metod badań *in vivo* jak i *in vitro* oraz metod biochemicznych (metoda Western blot oraz metoda płomieniowej atomowej spektrometrii absorpcyjnej) pozwoliły na uzyskanie spójnych i jednoznacznych wyników. Jednocześnie wskazują one na szeroki warsztat badawczy Doktorantki. Wykonanie doświadczeń i opracowanie wyników nie budzi zastrzeżeń.

Z obowiązku recenzenta, oceniając tę część rozprawy doktorskiej chciałam zwrócić uwagę na pewne błędy redakcyjne. W autoreferacie występują błędy gramatyczne oraz stylistyczne. Ponadto figury przedstawiające otrzymane wyniki są zbyt małe a tytuły osi wykresów wręcz nieczytelne co znacznie utrudnia ich analizę. W części merytorycznej autoreferatu brakuje obszerniejszego wyjaśnienia dlaczego to właśnie ketoprofen został wybrany do badań jako przedstawiciel niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Dodatkowo w podsumowaniu brak własnych przemyśleń Doktorantki na temat przesłanek do dalszych badań nad nanocząsteczkami w żywych organizmach lub komórkach izolowanych a także potencjalnych możliwości klinicznego zastosowania otrzymanych wyników. Pragnę jednak podkreślić, że przedstawione uwagi nie podważają pozytywnej oceny autoreferatu.

Wyniki uzyskane w ramach realizacji badań *in vivo* zostały opisane w **publikacjach nr 1, 4 i 5**. W teście karageninowym Doktorantka zaobserwowała znaczące zmniejszenie obrzęku tylnej łapy szczura po podaniu nanocząstek tlenku cynku (podania *ip*) oraz ich



pozytywny wpływ na aktywność przeciwzapalną ketoprofenu. Co ciekawe takich efektów nie zaobserwowano po podaniu dożołądkowym (**Publikacja nr 1**). Obie formy tlenku cynku wykazały działanie ochronne na błonę śluzową żołądka podczas jednoczesnego podania ketoprofenu (**Publikacja 1**).

W kolejnych badaniach Doktorantka określiła wpływ tlenku cynku podawanego w obu formach zarówno *ip.* jak i *po* na poziom cynku, miedzi, magnezu i wapnia w surowicy szczurów. Znaczny wzrost stężenia cynku w surowicy zaobserwowano po podaniu dootrzewnowym nanocząstek tlenku cynku. Znacznie słabszy efekt na stężenie cynku miało podanie *i.p.* tlenku cynku w formie standardowej (**Publikacja 5**). Droga podania w przypadku obu form tlenku cynku miała również istotny wpływ na poziom miedzi, magnezu i wapnia w surowicy szczurów. Tlenek cynku w postaci nanocząsteczkowej podawany *i.p.* obniżał poziom miedzi w surowicy szczurów podobnie do ketoprofenu (**Publikacja nr 4**). Tylko cynk podawany w formie standardowej obniżał poziom magnezu w surowicy. Natomiast nie zaobserwowano żadnych zmian w poziomie wapnia po podaniu tlenku cynku w żadnej z form (**Publikacja 5**).

Wyniki badań *in vitro* zostały opisane w **publikacji nr 2**. Stosując metodę Western blot Doktorantka wykazała obniżenie poziomu COX-2 (cyklooksygenazy -2), syntazy prostaglandyny E2 oraz receptora dla prostaglandyny F2 α po suplementacji nanocząstek tlenku cynku co potwierdziło przeciwzapalne właściwości nanocząstek tlenku cynku.

W **publikacji nr 3** Doktorantka podsumowała dane literaturowe dotyczące działania antyoksydacyjnego oraz potencjalnego działania przeciwzapalnego jonów cynku jak również możliwości wykorzystania tych właściwości jonów cynku w terapii co stanowi teoretyczne uzupełnienie przedstawionych danych eksperymentalnych.

Drobna redakcyjna uwaga. W opisach niektórych figur podane są wartości *p* natomiast brakuje informacji o tym do których grup te różnice statystyczne się odnoszą.

Podsumowując, przedłożona do recenzji rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie zbiór publikacji, który w znacznym stopniu zwiększa dotychczasową wiedzę na temat przeciwzapalnych właściwości jonów cynku. Wartość dodaną stanowi niewątpliwie wnikliwa analiza zależności siły działania przeciwzapalnego od formy podania jonów cynku jak i drogi ich podania.



W mojej opinii rozprawa doktorska zatytułowana „Ocena działania przeciwzapalnego nanocząstek tlenku cynku w modelu in vivo i in vitro” w pełni odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego UJ CM wnioszek o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Olbert do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Bernadeta Szewczyk