

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Katedra Biochemii Ogólnej

Łódź, 11 VII 2017 r.

Dr hab. Beata Olas, prof. nadzw. UŁ
Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział BiOŚ, UŁ

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Patrycji Bronowickiej-Adamskiej na temat
„Badanie aktywności i ekspresja enzymów biorących udział
w tworzeniu siarkowodoru w różnych układach doświadczalnych”**

Od lat wiadomo, że siarkowodór (H_2S), nazwany niedawno cząsteczką o „dwóch twarzach”, jest toksycznym i bezbarwnym gazem. W ostatnim okresie wykazano, że jest wytwarzany także endogennie w tkankach ssaków. Jego obecność wykryto w mózgu w 1989 r., ale dopiero w drugiej połowie lat 90-tych XX w. zasugerowano, że może to być endogenne przekaźnik nerwowy, kiedy opisano enzymatyczny mechanizm jego biosyntezy oraz biologiczne właściwości w stężeniach fizjologicznych. Najnowsze różnorodne badania potwierdzają, że siarkowodór, podobnie jak tlenek azotu i tlenek węgla, jest trzecim gazowym mediatorem ssaków. Jednak o jego wpływie na organizm decyduje stężenie. W dużych dawkach działa toksycznie, co jest głównie skutkiem blokowania enzymów oddechowych, jednak w niskich wykazuje wiele korzystnych działań m.in. w układzie krwionośnym, nerwowym, czy pokarmowym. Gaz ten odgrywa także rolę w wielu fizjologicznych, jak i patologicznych procesach, tj. neurotransmisja, zapalenie czy też neurodegeneracja.

Badania podjęte przez Panią mgr P. Bronowicką-Adamską w ramach pracy doktorskiej dotyczą więc ważnego problemu związanego z biosyntezą H_2S w różnych tkankach prawidłowych i objętych stanem zapalnym oraz hodowlach komórkowych.

Praca została wykonana w Katedrze Biochemii Lekarskiej, UJ Collegium Medicum, Wydziału Lekarskiego, pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Marii Wróbel. Badania zrealizowane w ramach pracy doktorskiej były finansowane ze środków pochodzących z dotacji dla młodych naukowców.

Rozprawę doktorską stanowi cykl czterech spójnie tematycznie prac doświadczalnych, które zostały opublikowane w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports o zasięgu międzynarodowym. W skład rozprawy doktorskiej wchodzi następujące prace:

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Katedra Biochemii Ogólnej

1. Bronowicka-Adamska P, Zagajewski J, Czubak J, Wróbel M, RP-HPLC method for the quantitative determination of cystathionine, cysteine and glutathione: an application for the study of the metabolism of cysteine in human brain. *Journal of Chromatography B*, 2011, 879, 2005-2009
2. Bronowicka-Adamska P, Zagajewski J, Wróbel M, An application of RP-HPLC for determination of the activity of cystathionine beta-synthase and gamma-cystathionine in tissue homogenates. *Nitric Oxide* 2015, 46, 186-191
3. Bronowicka-Adamska P, Bentke A, Wrobel M, Hydrogen sulfide generation from L-cysteine in the human glioblastoma – astrocytoma U-87 MG and neuroblastoma SHSY5Y cell lines. *Acta Biochimica Polonica* 2017, 64, 171-176
4. Bronowicka-Adamska P, Wróbel M, Magierowski M, Magierowska K, Kwiecień S, Brzozowski T, Hydrogen sulphide production in gastric mucosa of rats exposed to stress. *Molecules* 2017, 22, 530

Warto podkreślić, że sumaryczna wartość IF publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 10,3 oraz 105 punktów MNiSW. Do rozprawy doktorskiej zostały także dołączone pisemne oświadczenia współautorów wyżej wymienionych prac. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Z oświadczeń współautorów prac wynika, że Pani mgr P. Bronowicka-Adamska uczestniczyła bardzo aktywnie w badaniach na etapie ich planowania, następnie wykonała cały szereg różnych oznaczeń, które opracowała i opisała w publikacjach. Świadczy to o dużym zaangażowaniu Doktorantki w przeprowadzonych eksperymentach na różnych etapach ich realizacji i o dojrzałości naukowo-badawczej Pani mgr P. Bronowickiej-Adamskiej.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja doktorska zawiera nie tylko spis publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, oświadczenia współautorów, ale także omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz kopie czterech publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Doktorantka zaplanowała bardzo szczegółowo zakres prac badawczych, które podzieliła na kilka dużych doświadczeń, zaprezentowane w czterech opublikowanych artykułach. Na podkreślenie zasługuje zastosowanie przez Panią mgr P. Bronowicką-Adamską bardzo szerokiej gamy metod badawczych, wymagających dużej wiedzy badawczej i doświadczenia. Pozwolę sobie wymienić tylko niektóre z nich zastosowane w dysertacji: RP-HPLC, PCR, czy testy immunoenzymatyczne. Zastosowany materiał badawczy jest również niezwykle interesujący.

W pierwszej publikacji (1) Doktorantka oznaczała poziom glutationu zredukowanego i utlenionego, cysteiny oraz cystyny w tkankach z różnych regionów mózgu ludzkiego zmodyfikowaną metodą RP-HPLC, (2) - zmodyfikowaną metodą RP-HPLC zastosowała do badania aktywności enzymów zaangażowanych w syntezę

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Katedra Biochemii Ogólnej

siarkowodoru w tkankach mysich, w publikacji (3 i 4) - analizowała poziom siarkowodoru w dwóch liniach komórkowych: neuroblastomy ludzkiej oraz astrocytomy ludzkiej, a także w śluzówce żołądka szczura nieuszkodzonej i uszkodzonej w wyniku narażenia na stres.

Realizując tak szeroko zakrojone badania, Pani mgr P. Bronowicka-Adamska uzyskała interesujące wyniki, które następnie wnikliwie przedyskutowała z danymi literaturowymi. Lektura dysertacji wskazuje niezbicie, że Doktorantka jest bardzo dojrzałym badaczem, perfekcyjnie opanowała warsztat naukowy, wykazała się umiejętnością prowadzenia dyskusji naukowej oraz wyciągania interesujących i wyważonych następujących głównych wniosków:

- Poziom cysteiny jest bardzo zróżnicowany w zależności od regionu mózgu ludzkiego i skorelowany z aktywnością CBS i CTH
- W tworzeniu siarkowodoru w wątrobie główną rolę odgrywa CTH, a w mózgu CBS
- Komórki neuroblastomy mają potencjalnie większą zdolność do tworzenia H_2S z cysteiny niż komórki astrocytomy
- W stresie, który prowadzi do uszkodzenia śluzówki żołądka wzrasta biosynteza siarkowodoru, co ma korzystny wpływ na proces gojenia uszkodzonej śluzówki.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska jest niewątpliwie oryginalna. Ponadto, tak unikalne wyniki badań mogą stanowić dobrą podstawę do przeprowadzenia dalszej analizy tworzenia siarkowodoru w różnych modelach badawczych. Jestem bardzo ciekawa czy Doktorantka ma w planach kontynuację badań dotyczących biosyntezy H_2S w innych układach doświadczalnych.

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr P. Bronowickiej-Adamskiej, przygotowana w postaci spójnego tematycznie zbioru opublikowanych artykułów, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wnoszącego istotne, nowe treści do rozwoju nauki, wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki, a także Jej umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, tj. spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Zwracam się więc z uprzejmą prośbą do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr P. Bronowickiej-Adamskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję do Wysockiej Rady o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



Dr hab. Beata Olas, prof. nadzw. UŁ