

Dr hab. n. med. Jacek Drobnik, prof. UM
Zakład Patofizjologii
Katedra Patologii Ogólnej i Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Ul. Żeligowskiego 7/9
90-750 Łódź

Łódź, 30 kwietnia, 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Pauliny Iwan pt: "Potencjalne ochronne efekty substancji indolowych przed oksydacyjnymi uszkodzeniami lipidów błon komórkowych wywołanymi przez KIO_3 w gruczole tarczowym - badania in vitro". Praca wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Małgorzaty Karbownik-Lewińskiej.

Procesy oksydacyjne pełnią istotną rolę podczas syntezy hormonów tarczowych. Obejmują one nie tylko wstępne etapy polegające na utlenieniu jodu ale również reakcje katalizowane przez peroksydazę tarczową prowadzące do powstania tyroksyny i trijodotyroniny. Hormony tarczycy wywierają również wpływ na czynność mitochondriów sprzyjając syntezie wolnych rodników tlenowych. Komórki gruczołu są narażone na ciągłe działanie wolnych rodników tlenowych. Uszkodzeniu makrocząsteczek komórek tarczycy zapobiega utrzymanie równowagi pomiędzy procesami oksydacyjnymi i antyoksydantami. W niektórych wypadkach działanie endogenego systemu antyoksydacyjnego nie zapewnia utrzymania homeostazy, a stres oksydacyjny jest istotnym czynnikiem prowadzącym do uszkodzenia komórek i wywołania chorób gruczołu tarczowego. Z drugiej strony nieprawidłowy poziom hormonów tarczowych może sprzyjać tworzeniu się wolnych rodników tlenowych. Zwiększony poziom wolnych rodników tlenowych w niedoczynności tarczycy wynika z upośledzenia procesów antyoksydacyjnych. Natomiast nadczynność tarczycy jest związana z nadprodukcją czynników oksydacyjnych w mitochondriach. Wolne rodniki tlenowe mogą sprzyjać rozpadowi tyreoglobuliny ujawniając nowe epitopy rozpoznawane przez układ immunologiczny. Fakt ten może sprzyjać autoagresji. Stężenie przeciwciał przeciw tyreoglobulinie lub peroksydazie tarczycowej u pacjentów z chorobą Hashimoto korelowało z poziomem stresu oksydacyjnego. Natomiast w chorobie Gravesa-

Basedowa markery stresu oksydacyjnego wykazują pozytywną korelację z poziomem przeciwciał stymulujących czynność tarczycy. Nadmierny stres oksydacyjny może indukować nowotwory tarczycy.

Zapobieganie niedoborowi jodu wiąże się z jodowaniem soli kuchennej poprzez dodanie jodku potasu lub jodanu potasu, które mogą wykazywać działanie oksydacyjne. Szczególnie jodan potasu ujawniał właściwości prooksydacyjne prowadzące do uszkodzenia struktur komórkowych. Dlatego poszukiwanie skutecznie działających antyoksydantów, które obniżą ryzyko wystąpienia chorób tarczycy jest niezwykle istotne.

Melatonina określona przez Reitera jako regulator regulatorów jest wydzielana głównie w nocy i wywiera wpływ na działanie układów odpowiedzialnych za przekazywanie informacji tj. układu nerwowego, dokrewnego oraz immunologicznego. Hormon szyszynki jest jednocześnie antyoksydantem oraz regulatorem bioenergetycznej czynności mitochondriów. Melatonina może przechodzić przez błonę mitochondrialną do wnętrza organellum. Zjawisko to nie jest obserwowane u większości antyoksydantów. Podobnie antyoksydacyjne efekty przypisuje się kwasowi indolo-3-propionowemu.

Dyertacja oparta jest na trzech oryginalnych pracach naukowych opublikowanych w prestiżowych, recenzowanych czasopismach rangi międzynarodowej:

1. Iwan P, Stepniak J, Karbownik-Lewinska M. Melatonin reduces high levels of lipid peroxidation induced by potassium iodate in porcine thyroid. *Int J Vitam Nutr Res.* 2021 Jun;91(3-4):271-277. doi: 10.1024/0300-9831/a000628. Epub 2019 Dec 17. PMID: 31842692. IF=2.560, liczba punktów ministerialnych = 100.

2. Iwan P, Stepniak J, Karbownik-Lewinska M. Cumulative Protective Effect of Melatonin and Indole-3-Propionic Acid against KIO₃-Induced Lipid Peroxidation in Porcine Thyroid. *Toxics.* 2021 Apr 21;9(5):89. doi: 10.3390/toxics9050089. PMID: 33919052; PMCID: PMC8143077. IF=4.472, liczba punktów ministerialnych = 70.

3. Iwan P, Stepniak J, Karbownik-Lewinska M. Correction: Iwan et al. Pro-Oxidative Effect of KIO₃ and Protective Effect of Melatonin in the Thyroid-Comparison to Other Tissues. *Life* 2021, 11, 592. *Life (Basel).* 2022 Jul 7;12(7):1007. doi: 10.3390/life12071007. Erratum for: *Life (Basel).* 2021 Jun 21;11(6): PMID: 35888192; PMCID: PMC9319554. IF=3.253, liczba punktów ministerialnych = 70.

Całkowity IF = 10.285

Całkowita liczba punktów ministerialnych = 240

Praca złożona jest z obszernego streszczenia w języku polskim i angielskim, odbitek trzech wymienionych powyżej publikacji, komentarza do cyklu prac w języku polskim i

angielskim oraz liczącego 24 pozycje piśmiennictwa. Część ta obejmuje 74 strony. Całość uzupełniają oświadczenia współautorów.

Lek.med. Paulina Iwan podejmuje w swojej rozprawie doktorskiej ważny temat o dużym znaczeniu praktycznym. Celem pracy było sprawdzenie czy wybrane substancje indolowe (melatonina i kwas indolo-3-propionowy) mogą wywierać antyoksydacyjny wpływ chroniący lipidy błon komórkowych przed oksydacją potencjalizowaną przez jodek potasu lub jodan potasu. Ponadto, w pracy porównano również ochronne działanie hormonu szyszynki zapobiegające oksydacji lipidów powodowanej przez jodan potasu w tarczycy oraz innych narządach (jajnik, śledziona, wątroba, mózg, jelito cienkie, nerki).

W rozdziale materiał i metody znajdujemy wyczerpujący opis zastosowanych metod. Doświadczenia przeprowadzone były na homogenatach wieprzowych tarczycy oraz innych narządów zastosowanych do badań. Szczegółowo opisano stężenia robocze odczynników jodku potasu użytego w stężeniach w zakresie od 50-500 mM, oraz jodanie potasu stosowanego w stężeniach od 1.25 do 200 mM. Melatoninę używano w zakresie stężeń od 0.625 do 5 mM natomiast kwas indolo-3-propionowy w przedziale od 0.625 do 10 mM. Miarą peroksydacji lipidów w próbce był poziom dialdehydu malonowego oraz 4-hydroksyalkenali określanych spektrofotometrycznie. Wyniki prezentowano w nmol/g białka. Zawartość białka oznaczana była metodą Bradforda.

Najważniejszymi osiągnięciami badawczymi w pracy były:

1. Udowodnienie, że obydwie substancje stosowane do jodowania soli: jodek potasu oraz jodan potasu zwiększały oksydację lipidów w homogenatach tarczycy. Efekt ten był zależny od zastosowanego stężenia (publikacja 1).
2. Określenie warunków eksperymentalnych, przy których melatonina obniża oksydację lipidów w badanych homogenatach tarczycy (publikacja 1).
3. Udowodnienie, że stosowanie łączne melatoniny oraz kwasu indolo-3-propionowego wywierało najkorzystniejszy efekt antyoksydacyjny w homogenatach tarczycy poddanych działaniu jodanu potasu. Obserwacja ta powtarza się dla stężeń tej substancji od 18.75mM do 8.75mM (publikacja 2).

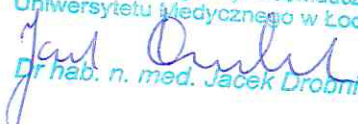
4. Potwierdzenie, że zastosowanie jodanu potasu wywołuje wzrost oksydacji lipidów w badanych narządach (jajnik, śledziona, wątroba, mózg, jelito cienkie, nerki). Wyznaczono również stężenia jodanu potasu (10-20mM), które powodują największe efekty oksydacyjne (publikacja 3).

5. Antyoksydacyjny efekt melatoniny zaobserwowano we wszystkich badanych narządach. Jednak działanie ochronne melatoniny w homogenatach tarczycy oceniono jako najsilniejsze (publikacja 3).

Wnioski zredagowane przez Doktorantkę, są prawidłowo sformułowane. Należy podkreślić, że główne osiągnięcia uzyskane z pracy mogą mieć znaczenie kliniczne. Ogłoszone publikacje w sposób istotny przyczynią się do rozwoju dyscypliny naukowej. Praca wykonana jest bardzo starannie. Nazewnictwo naukowe stosowane jest poprawnie. Nie stwierdziłem istotnych błędów w pracy.

Podsumowanie i opinia końcowa.

Rozprawa doktorska autorstwa lek. med. Pauliny Iwan jest tematycznie spójnym cyklem publikacji, prawidłowo wykonanych o dużym stopniu nowatorstwa i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Techniki badawcze stosowane przez Autorkę są nowoczesne i wiarygodne. Doktorantka wykazała umiejętność samodzielnego rozwiązywania problemów naukowych, dużą wiedzę teoretyczną i praktyczną oraz umiejętność interpretacji wyników. W związku z powyższym stawiam wniosek o wyróżnienie pracy. Przedłożona do oceny praca doktorska spełnia warunki stawiane pracom doktorskim w Ustawie Art. 187, ust. 1-4 z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. 2018, poz.1668). Uprzejmie proszę Radę Naukową Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki o dopuszczenie lek. med. Pauliny Iwan do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Zakładu Patofizjologii
Katedry Patologii Ogólnej i Doświadczalnej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Dr hab. n. med. Jacek Drobnik