

Katedra Biochemii UG,

Ul. Wita Stwosza, 80-308 Gdańsk

Tel. 058 523 6055

Tel/fax 058 523 6064

E mail: lipińska @biotech.ug.gda.pl

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ PANA MGR ORESTA KOPKO

Praca doktorska Pana mgr Oresta Kopko, pt. „Narażenie storni (*Platichthys flesus*)” na czynniki genotoksyczne w południowym Bałtyku mierzone przy zastosowaniu biotestu kometowego”, jest opracowaniem przedstawiającym stopień uszkodzenia DNA u storni zasiedlającej różne rejonu południowego Bałtyku, zróżnicowane pod względem zanieczyszczenia antropogenicznymi związkami chemicznymi, potencjalnie mogącymi mieć wpływ genotoksyczny. Celem badań Doktoranta było określenie stopnia uszkodzenia DNA storni przy użyciu testu kometowego, co miało prowadzić do weryfikacji hipotez, że (1) stopień uszkodzenia DNA jest zróżnicowany z uwagi na różnice w zanieczyszczeniu badanych rejonów oraz (2) stopień uszkodzenia DNA jest zmienny w skali roku i sezonu, i zależy od parametrów środowiskowych (temperatura wody i sezon) oraz biologicznych (kondycja ryb, stadium dojrzałości gonad).

W związku z tym, że znaczna część chemicznych zanieczyszczeń środowiska wytwarzanych przez człowieka może powodować uszkodzenia DNA, oraz że stopień zanieczyszczenia środowiska w skali światowej stale rośnie, ważne jest podejmowanie badań wyjaśniających, jakie mogą być efekty ekspozycji organizmów żywych na zanieczyszczone środowisko. Temat pracy doktorskiej pana mgr Kopko wpisuje się w ten nurt badań bardzo dobrze, jest jak najbardziej uzasadniony z poznawczego punktu widzenia i może również mieć znaczenie praktyczne. Wybór rejonu badań jest uzasadniony, z uwagi na to, że obszar południowego Bałtyku posiada rejonu o wysokiej zawartości niebezpiecznych zanieczyszczeń, w tym związków z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) i polichlorowanych bifenyli (PCB). WWA nie akumulują się w rybach, lecz są metabolizowane do reaktywnych związków mogących uszkadzać kwasy nukleinowe i białka; metabolity WWA akumulowane są w żółci. PCB ulegają akumulacji i szkodliwe są zarówno

same PCB, jak ich metabolity o własnościach silnie utleniających - reaktywne formy tlenu mogą uszkadzać DNA.

Dla różnych środowisk wybiera się różne organizmy bioindykatorowe, stanowiące możliwie czułe wskaźniki wpływu środowiska na organizm żywy – jednym z takich szeroko stosowanych bioindykatorów dla środowiska wodnego jest stornia, z uwagi na szeroki zakres występowania i stosunkowo stacjonarny tryb życia. Tak więc wybór modelu badawczego uważam za właściwy. Prawidłowo została też wybrana metoda badania uszkodzeń DNA. Test kometowy jest prosty, szybki, tani i zarazem czuły. Oczywiście, nie wskazuje zmian jakościowych a jedynie ilościowe, niemniej do realizacji założonych celów badawczych jest wystarczający. Pozwala on bowiem na obliczenie procentowego udziału uszkodzonego DNA (posiadającego pęknięcia jedno- i dwuniciowe i inne modyfikacje) w pojedynczej komórce, a tym samym pozwala określić genotoksyczny wpływ środowiska, w jakim znajdowała się badana komórka.

W ramach wykonywanych prac Autor skoncentrował się na badaniu wpływu wykonywał pomiary biologiczne, czyli mierzył długość, masę ciała masę gonad i wątroby ryb odłowionych w wybranych rejonach Bałtyku. Na tej podstawie określał współczynnik kondycji ryb, indeks gonado-somatyczny i hepato-somatyczny. Następnie wykonywał oznaczenia chemiczne i biochemiczne, mierząc zawartość metabolitów WWA w żółci, lipidów i PCB w mięśniach, oraz oznaczając stopień uszkodzenia DNA testem kometowym. Testując pierwszą hipotezę, oznaczenia wykonywał dla ryb w czterech stanowiskach, zlokalizowanych w Zatoce Gdańskiej (2 stanowiska) i w otwartej części Bałtyku (2 stanowiska); testując drugą hipotezę, wybrał jedno ze stanowisk w Zatoce Gdańskiej - to, gdzie u storni zaobserwowano najwyższy poziom zanieczyszczeń.

Wyniki przeprowadzonych badań pokazały, że stopień uszkodzenia DNA u samic storni z południowego Bałtyku był zróżnicowany pod względem przestrzennym, przy czym najwyższy był u ryb odłowionych w Zatoce Gdańskiej i obszarze otwartego morza położonego bliżej Zatoki (rejon Władysławowa) a najniższy – w rejonie otwartego morza w okolicy Ustki. Te wyniki nie stanowiły zaskoczenia, z uwagi na korelację z ogólnym stopniem zanieczyszczenia wód. Bardzo interesujące okazało się wykazanie, że na zróżnicowanie w skali przestrzeni miały wpływ PCB, lecz nie WWA. Stopień uszkodzenia w skali roku był największy w marcu-kwietniu, najmniejszy w październiku-grudniu i

wykazywał ścisłą współzależność z indeksem gonadowo-somatycznym (GSI), zawartością lipidów w mięśniach i narażeniem na WWA.

Porównanie zawartości PCB 153 w mięśniach i 1-OH pirenu w żółci z kryterium jakości środowiska BAC wskazało, że poziom PCB i WWA u storni w Zatoce Gdańskiej jest na tyle wysoki, że niesie ryzyko szkodliwego oddziaływania na organizm ryb. Autor zweryfikował to doświadczalnie, pokazując z użyciem testu kometowego, że u storni (z wyjątkiem ryb z okolicy Ustki) środowisko miało silnie genotoksyczny wpływ. W skali roku, uszkodzenia DNA były największe w okresie marzec-lipiec.

Podsumowując wyniki uzyskane w tej pracy, uważam, że wnoszą one wiele nowych, poznawczo istotnych informacji pogłębiających zrozumienie genotoksycznego wpływu środowiska morskiego południowego Bałtyku, ze szczególnym uwzględnieniem wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i polichlorowanych bifenyli. Ponadto, dostarczają nowych danych odnośnie wpływu pór roku i kondycji fizycznej ryb na uszkodzenia DNA. Wyniki te mogą mieć także znaczenie gospodarcze, ponieważ dotyczą środowiska eksploatowanego jako łowiska ryb.

Wysoko oceniam stronę metodyczną pracy: doświadczenia wykonano stosując dobrze dobrane metody chemiczne i biochemiczne. Uzyskane tymi metodami wyniki są bardzo czytelne i przekonujące. Wyniki zostały bardzo wnikliwie zinterpretowane przy użyciu prawidłowo dobranych metod statystycznych i klarownie przedstawione w postaci wykresów i tabel.

Dokładny i klarowny opis metodyki zamieszczony w pracy doktorskiej umożliwia, w razie potrzeby, powtórzenie doświadczeń oraz może być bardzo przydatny jako źródło praktycznych informacji dla osób pragnących wykorzystać podobne metody w innych eksperymentach.

Praca posiada dobrze opracowany Wstęp, wprowadzający czytelnika we wszystkie zagadnienia związane z częścią eksperymentalną rozprawy. Uważam, że Autor dobrze wyważył zakres problemów omawianych we Wstępie, koncentrując się na tym, co było dalej przedmiotem badań.

W rozdziale Dyskusja Doktorant wyczerpująco omówił swoje wyniki w kontekście prac innych autorów. Rozdział ten świadczy o tym, że jego Autor dobrze rozumie znaczenie własnych wyników i potrafi się do nich odnieść krytycznie.

Cytowana przez Doktoranta Literatura to około 250 pozycji, przy czym znacząca część cytacji pochodzi z ostatnich 10 lat, co pokazuje, że problematyka pracy jest bardzo aktualna. Od strony formalnej praca jest jak najbardziej prawidłowa, jest napisana klarownie, znalazłam też niewiele błędów edytorskich. Mam uwagę odnośnie ilości badanych okazów ryb – bardzo trudno było te wartości odszukać w tekście czy tabelach. Uważam, że w opisie wykresów należało podać, dla ilu osobników były wykonane określone pomiary.

Uważam, że omawiana tu praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnioskuję o dopuszczenie pana mgr Oresta Kopko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Katedry Biochemii
Barbara Lipińska
prof. dr hab. Barbara Lipińska