

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Magdaleny Ewy Szejek

**pt. „Antyoksydanty polifenolowo-polisacharydowe z roślin leczniczych z rodziny
Rosaceae i *Asteraceae* jako radioprotektory”,**

**wykonanej w Katedrze Biochemii Ogólnej Instytutu Biochemii
Uniwersytetu Łódzkiego**

**pod kierunkiem dr hab. Haliny Małgorzaty Żbikowskiej (Promotora)
oraz dr n. med. Alicji Klaudii Olejnik (Promotora pomocniczego)**

Radioterapia to jedna z podstawowych, stale rozwijających się metod leczenia nowotworów. Szacuje się, że chorzy wymagający zastosowania radioterapii stanowią około 60% pacjentów leczonych onkologicznie. Podstawowy mechanizm działania promieniowania jonizującego, wykorzystywanego w radioterapii, polega na generacji w komórkach napromienianych tkanek silnego stresu oksydacyjnego, uszkadzającego ich elementy funkcjonalne i budulcowe. Mimo, że nowoczesne techniki radioterapeutyczne w coraz większym stopniu umożliwiają celowane nakierowanie wiązki promieniowania na tkankę chorobowo zmienioną, nadal nie są to metody w pełni selektywne, a ich stosowanie wiąże się z ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych w postaci uszkodzeń tkanek prawidłowych. Z tego powodu poszukiwanie efektywnych sposobów ograniczania działań niepożądanych radioterapii, w tym skutecznych i selektywnych radioprotektorów, stanowi istotny i aktualny kierunek badawczy. Radioprotekcja jest istotna nie tylko w kontekście leczenia onkologicznego, lecz także diagnostyki radiologicznej oraz w znaczeniu profilaktycznym, w odniesieniu do osób zawodowo narażonych na promieniowanie jonizujące. Należy podkreślić, że dotychczasowy zakres badań nad radioprotektorami zdecydowanie wymaga poszerzenia, gdyż jak dotąd nie osiągnięto na tym polu wielu spektakularnych sukcesów, a jedyny dopuszczony do stosowania klinicznego lek (amifostyna) sam wykazuje istotne efekty uboczne.

Praca doktorska mgr Magdaleny Szejek wpisuje się bardzo dobrze w ten kontekst badawczy, stanowiąc oryginalny wkład w zagadnienie radioprotekcji i radioprotektorów pochodzenia roślinnego. Związki pochodzenia naturalnego stanowią niewyczerpane źródło różnorodnych struktur molekularnych, z których jak dotąd, pomimo ogromnego rozwoju fitochemii i fitofarmakologii, scharakteryzowano pod względem budowy chemicznej i aktywności biologicznej jedynie niewielką część. W grupie tej znajdują się zarówno związki stosowane w podstawowej praktyce klinicznej, w tym antybiotyki, liczne cytostatyki i chemioterapeutyki, jak i substancje stosowane głównie w leczeniu wspomagającym i profilaktyce chorób cywilizacyjnych, w tym m.in. związki polifenolowe. Polifenole to zróżnicowana pod względem struktury grupa metabolitów roślinnych, charakteryzujących się zwykle wyraźną aktywnością przeciwutleniającą, co czyni je naturalnymi kandydatami do roli potencjalnych radioprotektorów. Większość dostępnych danych literaturowych dotyczy jednak małocząsteczkowych polifenoli, rozpuszczalnych w soku komórkowym i pozyskiwalnych z materiału roślinnego za pomocą standardowej ekstrakcji wodą lub alkoholem. Przedmiotem recenzowanej rozprawy były natomiast tzw. glikokoniugaty polifenolowe, tj. prawdopodobnie połączenia lignino-podobnych fragmentów polifenolowych z polisacharydowymi elementami budulcowymi ścian komórek roślinnych

stanowiące zazwyczaj składniki odpadów poprodukcyjnych tradycyjnych ekstraktów. Brak szerszych badań nad profilem aktywności takich połączeń, przy dobrze udokumentowanych właściwościach przeciwutleniających ich potencjalnych elementów składowych, w szczególności części fenolowych, ale także polisacharydowych, pozwala uznać podjęty przez Doktorantkę temat badawczy za w pełni uzasadniony i noszący znamiona istotnej nowości naukowej.

Charakterystyka i ogólna ocena pracy

Właściwym celem pracy była ocena, czy preparaty roślinne o strukturze glikokoniugatów polifenolowych oraz ich komponenty polifenolowe, pozyskane z czterech wybranych roślin leczniczych (*Sanguisorba officinalis* L., *Fragaria vesca* L., *Rubus plicatus* Whe et N.E., *Erigeron canadensis* L.), wykazują właściwości radioochronne, a także wyjaśnienie mechanizmów ich działania w badaniach *in vitro*. Szczegółowe cele pracy obejmowały ocenę cytotoksyczności badanych analitów wobec fibroblastów mysich L929 i komórek jednojądrzastych krwi obwodowej człowieka, ocenę potencjalnego wpływu ochronnego analitów wobec komórek jednojądrzastych krwi obwodowej oraz białkowych i lipidowych składników osocza krwi ludzkiej przed indukowanymi promieniowaniem gamma stresem oksydacyjnym, genotoksycznością i apoptozą, a także ocenę potencjalnej selektywności działania radioochronnego badanych związków poprzez określenie ich wpływu na indukowany promieniowaniem gamma stres oksydacyjny i apoptozę komórek białaczkowych linii K562.

Praca doktorska mgr Magdaleny Szejka ma formę tradycyjnej monografii liczącej 130 stron standardowego maszynopisu, z czego 19 zajmuje bibliografia (obejmująca 184 pozycje aktualnego piśmiennictwa) oraz charakterystyka dorobku naukowego Doktorantki. Układ pracy jest przejrzysty, typowy dla opracowań eksperymentalnych, obejmujący część teoretyczną, opis stosowanej metodyki badawczej, prezentację i omówienie wyników, a także ich dyskusję. Praca zakończona jest krótkim podsumowaniem, oszczędnymi wnioskami oraz streszczeniem w językach polskim i angielskim, a także opatrzona bardzo przydatną dla czytelnika listą stosowanych skrótów. Niektóre zagadnienia poruszane w części teoretycznej i, przede wszystkim, dane uzyskane eksperymentalnie zostały przedstawione w postaci czytelnych, estetycznych rycin (30) i tabel (5), ułatwiających analizę zebranego materiału.

W liczącej 28 stron części teoretycznej Doktorantka w sposób rzeczowy wprowadza w tematykę dysertacji, w szczególności w pojęcia stosowane w ochronie radiologicznej, zagadnienia narażenia populacji na promieniowanie jonizujące, skutki oddziaływania promieniowania jonizującego na komórki, rodzaje śmierci komórkowej indukowanej tym rodzajem promieniowania, oraz rodzaje i mechanizmy działania znanych radioprotektorów. Część ta stanowi bardzo dobre uzasadnienie dla wyboru tematyki i celu pracy, prowadzi bezpośrednio do wyznaczonych zadań badawczych i dyskusji wyników, świadcząc o swobodzie poruszania się Doktorantki w obrębie poruszanych zagadnień.

Część doświadczalna pracy (29 stron) obejmuje zgodny z uniwersyteckimi standardami opis stosowanych materiałów i metod badawczych na poziomie szczegółowości wystarczającym, by czytelnik mógł ocenić prawidłowość eksperymentów i wypracować własny pogląd na temat wartości naukowej wyników. Należy podkreślić, że Autorka rozprawy uzyskała dużo oryginalnych wyników, które sprawnie zaprezentowała dzieląc właściwy rozdział pracy (26 stron) na szereg podrozdziałów ułatwiających poruszanie się w zebranym materiale. W liczącej 11 stron dyskusji Doktorantka zwięźle podsumowała przesłanki pracy i omówiła znaczenie uzyskanych wyników w kontekście danych literaturowych, zwracając szczególną uwagę na mechanizm działania radioochronnego glikokoniugatów polifenolowych i zależność efektywności tego działania od struktury badanych substancji.

W ramach pracy Doktorantce udało się, w oparciu o dobrze dobrany aparat metodyczny, potwierdzić zasadność przyjętych założeń i wykazać, że substancje o strukturze glikokoniugatów polifenolowych izolo-

wane z wybranych roślin leczniczych, a zwłaszcza z kwiatostanów krwiściągę lekarskiego (*Sanguisorba officinalis* L.), wykazują *in vitro* obiecujące efekty ochronne przed skutkami działania promieniowania jonizującego na komórki zdrowe, zwiększając ich przeżywalność poprzez ograniczanie wewnątrzkomórkowego poziomu ROS, hamowanie peroksydacji lipidów, zmniejszanie poziomu oksydacyjnych uszkodzeń elementów endogennego systemu antyoksydacyjnego (białek enzymatycznych, glutationu) i DNA, oraz hamowanie apoptozy. Co ważne, zaobserwowano, że związki te nie wpływają istotnie na przeżywalność modelowych komórek nowotworowych, a zatem działają selektywnie. Przy braku istotnych efektów cytotoksycznych wobec modelowych komórek prawidłowych, uzyskane wyniki mogą stanowić dobry punkt wyjścia dla badań kontynuowanych, w tym eksploracji możliwych dalszych mechanizmów molekularnych działania radioprotekcyjnego tych związków *in vitro*, biodostępności oraz efektów *in vivo*.

Istotną wartością pracy, decydującą o jej nowatorskim charakterze, jest materiał badawczy, jakim była mało poznana grupa fitozwiązków, nigdy wcześniej nie badana w kontekście działania radioprotekcyjnego. Wysoko należy również ocenić świadomość Doktorantki znaczenia charakterystyki fitochemicznej w badaniach substancji pochodzenia naturalnego. Współczesna fitoterapia stawia na substancje standaryzowane, o możliwie najdokładniej określonym składzie jakościowym i ilościowym. Uważa się, że w przypadku badań aktywności farmakologicznej substancji pochodzenia roślinnego, właściwa charakterystyka fitochemiczna jest warunkiem koniecznym uznania tych wyników za miarodajne. Warto zatem docenić fakt, iż mimo tego, że standaryzacja fitochemiczna nie wchodziła w zakres recenzowanej pracy, Doktorantka zamieściła w dysertacji jej szczegółowe wyniki (uzyskane w ramach współpracy naukowej), co z jednej strony umożliwiło wysnucie wstępnych wniosków na temat relacji struktura-aktywność, z drugiej zaś umożliwi w przyszłości porównanie wyników pracy z uzyskiwanymi sukcesywnie dla analogicznych produktów otrzymywanych z innych transz surowcowych i wypracowanie odpowiednich norm jakościowych dla glikokoniugatów, jako ewentualnych radioprotektorów.

Uwzględniając zakres przeprowadzonych eksperymentów, rodzaj stosowanej metodyki oraz uzyskane wyniki, poziom merytoryczny pracy oceniam wysoko. Osiągnięcie przez Doktorantkę wskazanego celu badawczego wymagało przeprowadzenia dużej liczby dobrze zaplanowanych doświadczeń, opartych o komplementarne testy *in vitro* w modelach chemicznych i biologicznych, a także opanowania szerokiej gamy metod eksperymentalnych, od prowadzenia hodowli komórek ssaczych, izolacji komórek jednojądrzastych z krwi obwodowej, przez szereg technik analitycznych, umożliwiających ocenę ilościową obserwowanych efektów, w tym testy spektrofotometryczne (m.in. test cytotoksyczności – aktywności dehydrogenazy mleczanowej, test ABTS do pomiaru całkowitego potencjału antyoksydacyjnego, testy TBARS i Ellmana do oceny peroksydacji lipidów i białek, testy oceniające aktywność endogennych enzymów antyoksydacyjnych – transferazy glutationowej i dysmutazy ponadtlenkowej), testy fluorymetryczne (testy przeżywalności komórek z barwieniem jodkiem propidyny, test z diocetanem dichlorofluorescyny do pomiaru wewnątrzkomórkowego poziomu ROS, test z *o*-ftalaldehydem do pomiaru poziomu zredukowanego glutationu), technikę cytometrii przepływowej (do oceny procesu apoptozy) i test kometowy (do pomiaru uszkodzeń DNA, w tym uszkodzeń oksydacyjnych zasad purynowych), po zasady analizy statystycznej wyników. O wysokim poziomie pracy świadczy publikacja większości jej wyników w postaci trzech artykułów eksperymentalnych w renomowanych czasopismach o zasięgu światowym i wysokich wskaźnikach bibliometrycznych (sumaryczny IF=10.015, punktacja MNiSW=100). Mgr Magdalena Szejka jest pierwszą autorką dwóch z ww. publikacji oraz drugą autorką trzeciej pracy, co wskazuje na Jej kluczowy wkład w ich powstanie. Jest również pierwszą autorką pracy przeglądowej (IF=0.690) dotyczącej radioprotektorów i ich zastosowania w radioterapii. Dużym osiągnięciem Doktorantki, wynikającym bezpośrednio z efektów pracy doktorskiej, świadczącym o Jej pragmatycznym podejściu do działalności naukowej, jest współautorstwo zgłoszenia patentowego na temat zastosowania roślinnego środka przeciwutleniającego w ochronie przed promieniowaniem jonizującym. Na podkreślenie zasługuje również cenna umiejętność Doktorantki pracy w interdys-

cyplinarnych zespołach naukowych – wszystkie ww. prace to prace wieloautorskie (liczące 6-8 autorów), stanowiące efekt udanej współpracy fitochemików, radiochemików i biologów. Nie byłoby to z całą pewnością możliwe bez gotowości i umiejętności Doktorantki skorzystania z dużego doświadczenia Promotora i Promotora pomocniczego w trakcie planowania i realizacji pracy doktorskiej oraz koordynacji współpracy naukowej.

Wątpliwości, polemiki i komentarze

Realizacja złożonego projektu badawczego to sztuka wyboru – przedmiotu badań, metod i technik badawczych, testów statystycznych, sposobu przedstawienia wyników, etc. Pozostawia to zawsze pole do dyskusji i komentarza. Nie inaczej jest i w tym przypadku. Oceniając pozytywnie recenzowaną dysertację według obowiązujących kryteriów, poniżej zamieszczam listę moich uwag i komentarzy do niektórych wątków rozprawy, jako zachętę dla Doktorantki do dyskusji i przedstawienia własnych opinii i wyjaśnień w odniesieniu do poruszanych zagadnień.

W części teoretycznej pewien niedosyt pozostawia brak krótkiej choćby charakterystyki gatunków roślin leczniczych stanowiących źródło badanych glikokoniugatów, a także głębszego uzasadnienia wyboru gatunków i surowców do badań. Należy oczywiście podkreślić, że kwestie te stanowiły domenę jednostki współpracującej, a Doktorantka przyjęła pewne wcześniejsze ustalenia „z dobrodziejstwem inwentarza”, niemniej jednak przybliżenie pewnych danych ułatwiłoby czytelnikom odbiór rozprawy w szerszym kontekście, a Doktorantce prowadzenie późniejszej dyskusji. Zgodnie z informacją zamieszczoną w rozprawie, Doktorantka bazowała na wynikach prac zespołu Zakładu Chemii Medycznej i Mikrobiologii Politechniki Wrocławskiej, który odpowiadał za izolację i charakterystykę fitochemiczną badanych glikokoniugatów. O ile jednak z rozważań zamieszczonych w dyskusji dowiadujemy się, że do badań w ramach pracy doktorskiej wybrano cztery najbardziej obiecujące gatunki i surowce spośród 17-stu wcześniej testowanych, niejasne pozostają przesłanki leżące u podstaw wyboru pierwotnej grupy testowej. Część surowców roślinnych z tej grupy, w tym będące przedmiotem rozprawy, posiada niewielkie znaczenie w fitoterapii, i jest wykorzystywana głównie w formie nieprzetworzonej, pod postacią ziół pojedynczych lub mieszanek ziołowych, przeznaczonych do samodzielnego przygotowywania naparów/odwarów przez pacjentów. W mojej opinii, gdyby materiał badawczy stanowiły koniugaty pozyskane z surowców wykorzystywanych do przemysłowej produkcji ekstraktów roślinnych, praca oprócz znamion nowości naukowej miałaby wyraźne walory aplikacyjne. Istniałaby wówczas realna możliwość praktycznego wdrożenia opatentowanej procedury izolacyjnej i otrzymywania glikokoniugatów z łatwo dostępnych odpadów poekstrakcyjnych, a koszt ich produkcji byłby być może akceptowalny nawet przy obserwowanej niskiej wydajności izolacji (do 2% s.m. materiału roślinnego).

Oprócz kwestii wyboru materiału roślinnego, pewien niedosyt budzi mimo wszystko także charakterystyka fitochemiczna analizowanych glikokoniugatów, zarówno w warstwie merytorycznej, jak i przedstawienia wyników. Odnoszę bowiem wrażenie, że dysertacja może pozostawiać czytelnika, zwłaszcza niespecjalizującego się w fitochemii, z niepewnością, co do charakteru i struktury badanych połączeń. Szkoda, że Doktorantka nie pokusiła się w części teoretycznej o krótką charakterystykę tej grupy związków na podstawie danych literaturowych i nie zaprezentowała wzoru modelowej struktury. Badane anality to najprawdopodobniej połączenia polisacharydów ścian komórkowych z fragmentami lignino-podobnymi (o różnym stopniu polimeryzacji) za pomocą licznych wiązań. Izolacja z materiału roślinnego silnie powiązanych ze ścianami komórkowymi glikokoniugatów jest trudna i prowadzi zazwyczaj do uzyskania mieszaniny połączeń o różnej masie cząsteczkowej i/lub strukturze. Szkoda, zatem, że współpracujący zespół fitochemików nie podjął się sprawdzenia, czy badane substancje są jednorodne (jak zdaje się sugerować Doktorantka w rozprawie), czy raczej stanowią mieszaniny, a także, jaka jest ich dokładna masa cząsteczkowa, czy raczej rozkład mas, co można by stwierdzić, np. za pomocą analizy techniką MALDI-TOF-MS. Uświadomienie

czytelnikowi złożoności badanych analitów, a jednocześnie interpretację wyników zamieszczonych w tabelach 2A-C, ułatwiłoby także zamieszczenie w rozprawie przykładowego chromatogramu GC/MS produktów pirolizy z identyfikacją poszczególnych pików.

Zgodnie z danymi literaturowymi, wiązania łączące fragment polifenolowy i polisacharydowy w glikokoniugatach to w większości wiązania eterowe i estrowe, z niewielką liczbą wiązań glikozydowych, co wynika z samej natury polisacharydów, stanowiących ich części składowe. W związku z tym, uważam za niezbyt fortunne używanie w pracy określenia „aglikon” (zarezerwowanego dla części niecukrowych typowych glikozydów) dla fragmentów polifenolowych uwolnionych z glikokoniugatów w procesie hydrolizy kwasowej. Wskazane byłoby używanie właśnie określenia „fragmenty” lub „komponenty polifenolowe”.

Ważną częścią recenzowanej rozprawy były badania aktywności antyoksydacyjnej. Większość z tych analiz została przeprowadzona z użyciem modeli biologicznych – komórkowych i modelu osocza – z oznaczeniem szeregu parametrów istotnych dla ochrony antyoksydacyjnej i radioprotekcji *in vivo*. Jednak w testach wstępnych, służących selekcji analitów do badań w modelach biologicznych, zastosowano prosty, chemiczny test *in vitro*, tj. test TEAC – zmiatania kationorodnika ABTS. W mojej opinii, z powodu ponadprzeciętnie wysokich odchyleń uzyskanych wyników, jest to zdecydowanie najłabsza część pracy. Testy TEAC, w tym stosowany przez Doktorantkę wariant z nadsiarczaniem potasu, zyskały dużą popularność wśród analityków z uwagi na prostotę wykonania i wysoką precyzję. Przyjmuje się, że dla analitów o powtarzalnym i stabilnym składzie chemicznym, np. roztworów standardów, względne odchylenie standardowe (*RSD*) pojedynczego pomiaru nie powinno przekraczać 5-10%. Tymczasem w dysertacji, w tabelach 3 i 4, odnajdujemy dla badanych analitów, w tym wzorcowej kwercetyny i rutyny, wartości *RSD* przekraczające 20-30%. Co ciekawe, wartości te były często wyższe od otrzymanych przez Doktorantkę w testach biologicznych, zwykle charakteryzujących się wyraźnie niższą precyzją niż testy w układach chemicznych. Ponadto, w tabeli 3 zamieszczono wartości RSA (% zmiatania) przekraczające 100%, np. dla rutyny było to 124%. Czy Doktorantka mogłaby wyjaśnić znaczenie fizykochemiczne takich wyników? Z zamieszczonego w części doświadczalnej wzoru można wnioskować, że uzyskanie wyników RSA powyżej 100% wymagało zmierzenia ujemnej absorbancji próbki badanej (ABTS+analit), co wskazuje na występowanie błędów w przyjętej procedurze analitycznej lub nieuwzględnienie możliwych interferencji (np. ze strony próbki). Czy Doktorantka mogłaby wyjaśnić, dlaczego pomiary absorbancji prowadziła przy niespecyficznym długości fali 414 nm, przy której absorbuje część związków polifenolowych, w tym badane wzorcowe flawonoidy, a nie przy rekomendowanej przez źródłową pracę Re i wsp. (1999) długości fali 734 nm? Należy jednak podkreślić, że pomimo nieprecyzyjności i kontrowersyjności, otrzymane wyniki pozwoliły zaobserwować trend aktywności antyoksydacyjnej glikokoniugatów i ich fragmentów polifenolowych oraz dokonać selekcji analitów do dalszych badań w modelach biologicznych. Tym samym, ewentualnie popełnione błędy nie wpłynęły na kształt i wartość dalszych części pracy.

W analizach wykonanych na kolejnych etapach badań, Doktorantka, jako wzorzec pozytywny, stosowała kwercetynę, kierując się jej stosunkowo dobrze udokumentowanym *in vitro* działaniem radioochronnym. Trzeba jednak pamiętać, że związek ten nie jest wykorzystywany, ani nawet rozważany, jako radioprotektor do zastosowań klinicznych. Z tego względu, wyniki dysertacji znacznie zyskałyby na wartości naukowej i aplikacyjnej, gdyby obok kwercetyny uwzględniona w badaniach została także amifostyna, jedyna jak dotąd substancja wykorzystywana w praktyce.

W dyskusji z danymi literaturowymi Autorka rozważa możliwe mechanizmy oddziaływania badanych glikokoniugatów z komórkami w kontekście biodostępności. Należy zaznaczyć, że przy niewielkiej modyfikacji niektórych stosowanych w pracy procedur eksperymentalnych, Doktorantka zyskałaby możliwość dyskusji w tym miejscu własnych wyników. Dobrym przykładem może być tu test tzw. komórkowej aktywności antyoksydacyjnej (z dichlorofluorescyną, jako sondą fluorescencyjną). Przy odpowiednim zaprojek-

towaniu pozwala on ocenić nie tylko wpływ badanych substancji na wewnątrzkomórkowy poziom ROS, jak to miało miejsce w przypadku ocenianej rozprawy, ale także ich biodostępność (rozumianą, jako zdolność analitów lub ich metabolitów do przenikania do wnętrza komórki), bądź ewentualne interakcje z błonami komórkowymi, co jest użyteczne dla prognozowania efektów *in vivo* i zakresów zastosowań badanych substancji. Warunkiem uzyskania tego rodzaju informacji jest przeprowadzenie równoległe eksperymentów z usunięciem analitów z medium reakcyjnego po inkubacji z komórkami a przed zastosowaniem oksydanta (w tym przypadku przed napromienianiem), czego jednak Doktorantka nie zdecydowała się zrobić.

Niezależnie od powyższych rozważań, dostarczone przez Doktorantkę dane na temat struktury badanych glikokoniugatów pozwalają przypuszczać, że ich biodostępność jest raczej niska. Biorąc pod uwagę z jednej strony obiecujące wyniki uzyskane w trakcie realizacji pracy, a z drugiej spodziewaną niską biodostępność, jakie ewentualne drogi podania i kierunki dalszych badań Doktorantka uważałaby za wskazane/możliwe dla tych związków?

Nigdzie w pracy nie znalazłam informacji na temat udzielonej zgody lokalnej komisji bioetycznej na wykonanie doświadczeń z wykorzystaniem krwi ludzkiej, mimo że takie dane zostały podane w jednej z publikacji Doktorantki (Szejka et al., *J. Photochem. Photobiol. B*, 2017, 171, 50-57).

W pracy zastosowano nietypowy sposób cytowania piśmiennictwa, który można określić, jako swoistą mieszankę stylu oksfordzkiego i harwardzkiego. Cytowania w tekście były podawane w systemie autor-rok, a opisy bibliograficzne uporządkowane alfabetycznie w rozdziale końcowym, ale opatrzone dodatkowo kolejnymi numerami, niepojawiającymi się w tekście głównym. Z kolei pozycje cytowane w tekście obok siebie były wymieniane w przypadkowej kolejności (niealfabetycznie), każda w sąsiadujących, oddzielnych nawiasach. Czy Doktorantka kierowała się wybierając taki nieortodoksyjny sposób cytowania?

Pod względem językowym manuskrypt pracy został zredagowany poprawnie. Tekst budzi zainteresowanie czytelnika i jest napisany przejrzystym, zwięzłym stylem. Jak często się jednak zdarza w przypadku tak obszernych opracowań, Autorce nie udało się uniknąć błędów drukarskich i mniej zręcznych sformułowań. Najwięcej tych ostatnich dotyczy nomenklatury chemicznej i dziedziny fitochemii, a zatem obszarów znajdujących się na peryferiach zainteresowań Doktorantki. Przykładowo, kwercetyna to poprawnie 3,5,7,3',4'-pentahydroksyflawon (nie 3,5,7,3',5'); zamiast określeń „pierścień gwajakolu”, czy „pierścień syringolu” (str. 45), proponowałabym użyć sformułowania „układ gwajakolu”, etc.; „monoglukozyl rutyny” (str. 33) to prawidłowo „glukozyl rutyny”; reakcje przebiegają w środowisku kwasowym, nie „kwaśnym” (str. 56 i 57); polskie tłumaczenie słowa „diacetate” (str. 64) to diocetan, nie „diacetan”; w miejsce sformułowania „właściwości przeciwutleniające flawonoidów wynikają z ich budowy pierścieniowej” (str. 96) należałoby napisać, że wynikają z ich budowy „fenolowej”; substancje chemiczne wykazują „właściwości” lub „aktywność” antyoksydacyjną, nie „zdolności” antyoksydacyjne; stwierdzenie „kwasy heksuronowe, bogate w karboksylowe grupy funkcyjne” (str. 44 i 97) jest nieprawidłowe – kwas uronowy to kwas monokarboksylowy; cząstkę określoną jako „proton wodoru” (str. 103) należy nazywać po prostu „protonem”; zwracam też uwagę Doktorantce, że w glikozydach flawonoidowych występują nie tylko wiązania *O*-glikozydowe (str. 96), lecz także *C*-glikozydowe, a kwercetyna i rutyna to związki pochodzenia naturalnego, nie syntetycznego (str. 97); ponadto stwierdzenie, że „do grupy znanych substancji wykazujących działanie radioochronne zaliczają się zioła chińskie i ajurwedyjskie” (str. 12) jest mało precyzyjne wobec tysięcy gatunków i surowców roślinnych wykorzystywanych w tych tradycyjnych systemach; nie należy również stosować wymiennie określeń „flawonoidy” i „polifenole” (str. 103), gdyż flawonoidy stanowią jedynie podgrupę polifenoli.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Szejki jest tematycznie spójna, nowatorska i stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego problemu badawczego, wnosząc istotne wartości poznawcze z potencjalną możliwością ich zastosowania. Wszelkie podniesione w recenzji uwagi mają charakter polemiczny lub korektorski i nie obniżają wartości przedstawionej do oceny pracy. W trakcie jej realizacji Doktorantka wykazała się znajomością szeregu technik badawczych, umiejętnością stawiania i weryfikacji hipotez badawczych, krytycznej analizy i interpretacji wyników oraz ich sprawnej publikacji w renomowanych czasopiśmie o wysokim współczynniku wpływu, a także umiejętnością efektywnej pracy w zespole naukowym. W efekcie, pomimo krótkiego stażu pracy, Doktorantka zgromadziła solidny dorobek naukowy w postaci 7 publikacji oryginalnych, w tym 5 eksperymentalnych, o sumarycznym IF=13.914, jednego zgłoszenia patentowego oraz 15 komunikatów zjazdowych z konferencji krajowych i międzynarodowych, co świadczy o Jej dużej aktywności naukowej.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny dysertacja w pełni odpowiada formalnym oraz merytorycznym warunkom stawianym rozprawom doktorskim, określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) i wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Magdaleny Szejki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, z uwagi na wysoką wartość merytoryczną pracy, potwierdzoną wysokim współczynnikiem oddziaływania (IF=10.015 dla opublikowanych artykułów eksperymentalnych), wnoszę do Wysokiej Rady o jej wyróżnienie.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Farmakognozji
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

dr hab. n. farm. prof. nadzw. Monika A. Olszewska