



Prof. dr hab. Małgorzata Materska,
Uniwersytet Przyrodniczy
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii,
Katedra Chemii, ul. Akademicka 15
20-950 Lublin
Tel: 81 445 66 38
e-mail: malgorzata.materska@up.lublin.pl

Lublin, 21.12.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr **Agaty Rolnik**

pt. „Analiza składu chemicznego preparatów z warzyw z rodziny dyniowatych (*Cucurbitaceae*) i astrowatych (*Asteraceae*) i ich wpływ na wybrane elementy hemostazy”

Podstawa prawna sporządzenia recenzji

Recenzja została wykonana na zlecenie prof. dr hab. Agnieszki Marczak - Przewodniczącej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne z dnia 18 października 2022 r do pełnienia funkcji recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora mgr Agacie Rolnik. Postępowanie jest prowadzone na podstawie przepisów ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021 poz. 478 z późn. zm.).

Uzasadnienie podjęcia tematu badawczego

Celem recenzowanej pracy była analiza składu chemicznego ekstraktów otrzymanych z wybranych warzyw z rodziny *Cucurbitaceae* i *Asteraceae* oraz ocena oddziaływania ich składników z wybranymi elementami hemostazy, w tym płytkami krwi w badaniach *in vitro*. Finalnym celem badań był wybór ekstraktu, który charakteryzuje się najwyższą aktywnością biologiczną w odniesieniu do chorób układu sercowo-naczyniowego. W dobie ciągle rosnącej zapadalności na choroby cywilizacyjne podejmowanie prób znalezienia rozwiązań mających na celu ich ograniczenie i profilaktykę jest tematem aktualnym i wpisuje się w problematykę naukowo-badawczą realizowaną w dyscyplinie nauk biologicznych. Dodatkowo nasilająca





się powszechnie lekooporność wymusza konieczność poszukiwania naturalnych odpowiedników dla syntetycznych środków farmaceutycznych. Warzywa z rodziny dyniowatych są znane i łatwo dostępne lecz często niedoceniane i pomijane w codziennej diecie. Podobnie, choć w mojej ocenie lepiej jest w przypadku drugiej analizowanej grupy roślin, czyli astrowatych. Szczególnie dotyczy to sałat, które dostępne są w marketach przez cały rok zarówno w postaci mixów, jak też pojedynczych roślin. Zwrócenie uwagi na korzyści zdrowotne wynikające z ich częstego spożywania oraz poszukiwanie możliwości otrzymania wartościowych ekstraktów z tego stosunkowo taniego surowca roślinnego jest jak najbardziej uzasadnione.

Dlatego uważam, że temat badawczy podjęty przez Doktorantkę jest trafny i dobrze wpisuje się w nurt badań z zakresu nauk biologicznych.

Formalna ocena pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa stanowi cykl sześciu powiązanych tematycznie recenzowanych artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *Nutrition*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Molecules*, *Scientific Reports* oraz dwie publikacje w *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Sumaryczny współczynnik wpływu Impact Factor tych prac wynosi 31,915, co odpowiada 760 punktom zgodnie z wykazem czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych. Prace te ukazały się w latach 2020-2022, są to prace wieloautorskie, we wszystkich mgr Agata Rolnik jest wymieniona jako pierwszy autor. Załączone oświadczenia współautorów wskazują, że udział mgr Rolnik w tych pracach wynosił pomiędzy 40 a 60% i polegał głównie na opracowaniu koncepcji badań, przygotowaniu prób i wykonaniu analiz biologicznych oraz analizie statystycznej a także na przygotowaniu części manuskryptów. Pomimo, że udział własny Doktorantki nie jest zbyt wysoki, to ranga czasopism, w których zostały prace opublikowane i wysoka ich punktacja dają pani mgr Rolnik wysoki udział punktów własnych, wynoszący: 389 punktów, co stanowi ponad 50% punktacji prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Na tej podstawie można uznać, że wskaźniki uzyskane przez panią mgr Agatę Rolnik są w pełni wystarczające przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora.

Treść prac skompilowana została w liczącym 32 strony przewodniku, stanowiącym





syntezę prowadzonych badań. Wymienione zostały w nim źródła finansowania, których beneficjentką była pani mgr Agata Rolnik, następnie zamieszczono wykaz publikacji stanowiących treść rozprawy doktorskiej, po nim wykaz pozostałego dorobku naukowego Doktorantki. Dorobek ten jest bardzo wysoki, jest to osiem publikacji wieloautorskich o punktacji od 100 do 200 punktów zgodnie z wykazem MEiN, w jednej z nich pani magister jest pierwszym autorem. Suma punktów za wszystkie wymienione publikacje wynosi 1780, a całkowity Impact Factor 73,262. Kolejną część opracowania stanowi szeroko rozbudowany wstęp, w którym szczegółowo zostało opisane zjawisko hemostazy, jej zaburzenia i związane z tym ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, następnie Doktorantka opisuje stosowane terapie w leczeniu tego schorzenia, przechodząc do tematyki związanej z wpływem zdrowej diety w zapobieganiu chorobom sercowo-naczyniowym. W ostatniej części wstępu scharakteryzowane zostały rośliny z rodzin dyniowatych i astrowatych głównie pod względem zastosowania ich w medycynie. Następne części przewodnika to cel badań z wyszczególnieniem założeń podstawowych oraz sformułowaną hipotezą badawczą, materiał i metody badań, wyniki w odniesieniu do poszczególnych publikacji wchodzących w skład rozprawy, wnioski, streszczenie w języku polskim oraz angielskim, wykaz cytowanej literatury, kopie publikacji wchodzących w skład cyklu oraz oświadczenia współautorów.

Z przedstawionej do oceny rozprawy wynika, że mgr Agata Rolnik uzyskała efekty kształcenia przewidziane według Polskich Ram Kwalifikacji dla ósmego (doktoranckiego) poziomu kształcenia, tj. posiada umiejętność opracowania koncepcji badań, zdolność do planowania i prowadzenia badań, a także opracowania statystycznego wyników i przygotowania artykułów do druku w czasopismach o zasięgu krajowym i międzynarodowym.

Reasumując, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Agaty Rolnik spełnia wymogi formalne ubiegania się o stopień naukowy doktora.

Merytoryczna ocena pracy

Biorąc pod uwagę, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska składa się z już opublikowanych i wcześniej recenzowanych artykułów naukowych moja ocena odnosi się głównie do pracy doktorskiej jako całości opracowania.

Pierwszą część rozprawy stanowi studium literaturowe na temat aktualnego stanu wiedzy dotyczącej właściwości prozdrowotnych warzyw z rodziny *Cucurbitaceae* oraz





roślin z rodziny *Asteraceae*. Poza charakterystyką botaniczną Autorka zwraca uwagę na charakterystykę chemiczną tych roślin, właściwości antyoksydacyjne oraz aktywność biologiczną, w tym właściwości przeciwcukrzycowe, antynowotworowe, antybakteryjne i antyzapalne. Taki układ pracy stanowi odzwierciedlenie rozdziału „Przegląd literatury”, który występował w klasycznych książkowych rozprawach doktorskich i stanowi idealne wprowadzenie do poruszanej tematyki badawczej.

Hipoteza badawcza postawiona przez kandydatkę do Stopnia Naukowego Doktora zakłada, że preparaty otrzymane z wybranych warzyw z rodziny dyniowatych i astrowatych wykazują aktywność antyoksydacyjną, antyplatekową i przeciwzkrzepową. Hipoteza ta jest weryfikowana poprzez realizowane kolejne cele pracy: analizę składu chemicznego ekstraktów z wybranych roślin rodzin dyniowatych (dynia, cukinia, ogórek, patison biały, patison żółty) i astrowatych (liście cykorii, sałaty zielonej, sałaty czerwonej, bulwy topinamburu, owoce i korzenie mniszka pospolitego). Ocenę wpływu wymienionych ekstraktów na poziom biomarkerów stresu oksydacyjnego w osoczu oraz na proces krzepnięcia w warunkach *in vitro*. Następnym etapem zamierzonych badań była analiza wpływu dodatku ekstraktów na różne etapy aktywacji płytek krwi i przemiany biochemiczne zachodzące w tych komórkach w warunkach *in vitro*.

Część metodyczna pracy nie budzi moich zastrzeżeń z wyjątkiem posługiwania się przez Doktorantkę terminem „preparat”. Według definicji słownika języka polskiego „preparat” to „substancja lub mieszanina substancji, np. lek, kosmetyk o konkretnym zastosowaniu”. W ocenianej pracy analizowane były ekstrakty roślinne w kontekście szeregu właściwości powiązanych z elementami hemostazy ale nie zostało zdefiniowane ich konkretne wykorzystanie. Dlatego uważam, że lepszym terminem w tym ujęciu jest „ekstrakt”.

Wymienione cele badawcze zrealizowano poprzez bardzo starannie zaplanowane i konsekwentnie realizowane badania analityczne. Jest to również widoczne w podziale tematycznym załączonych publikacji. Trzy dotyczą badań nad roślinami rodziny dyniowatych i trzy rodziny astrowatych, gdzie po studium literaturowym (**publikacja 1 i 2**), dwie kolejne zawierają treści dotyczące sposobu otrzymania ekstraktów, analizy ich składu chemicznego oraz ocenę aktywności antyrodnikowej i potencjału antyoksydacyjnego w osoczu, konsekwentnie dla ekstraktów z rodziny dyniowatych (**publikacja 3**) oraz astrowatych (**publikacja 4**). Interesujący element wymienionych badań stanowi analiza wpływu





ekstraktów roślinnych na poziom trzech biomarkerów stresu oksydacyjnego w osoczu, który indukowany był mieszaniną H_2O_2 i $FeSO_4$ generującą rodnik hydroksylowy OH^\cdot . W metodzie tej oznaczano poziom peroksydacji lipidów, właściwości protekcyjne względem grup tiolowych oraz wpływ na zahamowanie karbonylacji białek w osoczu. Pani magister Agata Rolnik operując ogromną pulą wyników badań próbuje znaleźć powiązania pomiędzy składem chemicznym ekstraktów oraz ich aktywnością biologiczną. Na tym etapie badań w mojej ocenie zabrakło analizy ilościowej badanych frakcji chociażby z wykorzystaniem metod spektrofotometrycznych (suma związków fenolowych metodą Folina-Ciocalteu lub innych). Jedynie w publikacji 4 zamieszczone są wyniki przybliżonej analizy ilościowej sześciu kwasów fenolowych w ekstraktach z rodziny astrowatych uzyskanych metodą UHPLC- detektorem masowym z potrójnym kwadrupolem. Jednak wyniki te w mojej ocenie zostały przez doktorantkę potraktowane marginalnie. Dodatkowo wyniki analizy wpływu ekstraktów roślinnych na poziom biomarkerów stresu oksydacyjnego w osoczu opisane są sposobem zero-jedynkowym, czyli jako potwierdzenie aktywności lub jej brak. Zatem można tu raczej mówić o wszechstronności potencjału antyoksydacyjnego niż o silniejszych właściwościach antyoksydacyjnych danego ekstraktu. Trzecią część ocenianej pracy stanowiły ostatnie dwie publikacje, w których zawarte zostały wyniki analiz wpływu ekstraktów z rodziny dyniowatych (**publikacja 5**) oraz astrowatych (**publikacja 6**) na różne etapy aktywacji płytek krwi i przemiany biochemiczne zachodzące w tych komórkach. Do tej części pracy nie mam uwag krytycznych. Uważam, że doświadczenie z wykorzystaniem komórek krwi ludzkiej jest nowatorskim ujęciem badania aktywności ekstraktów roślinnych w układach biologicznych. Dodatkowym atutem tej części badań jest fakt, że doktorantka tak dobierała stężenia stosowanych ekstraktów roślinnych, aby odpowiadały one fizjologicznemu stężeniu w surowicy krwi podczas stosowania suplementacji związkami fenolowymi. Ostatnim elementem rozprawy doktorskiej, do której z kolei mam uwagi krytyczne są wnioski. Pierwszy wniosek jest zbyt ogólnikowy, a w dwóch ostatnich pani magister posługuje się terminem korelacji składu chemicznego z aktywnością ekstraktów, podczas gdy nie wykonano w pracy tego rodzaju analiz (np. korelacji Pearsona, PCA), a szkoda bo z pewnością tego rodzaju analiza statystyczna ułatwiłyby interpretację wyników badań i znacząco wzbogaciłyby pracę.

Na zakończenie, odnosząc się do przedstawionej rozprawy oraz przeprowadzonych przez mgr Agatę Rolnik badań, proszę o ustosunkowanie się do poniższych kwestii:





- Proszę o zweryfikowanie trzeciego celu pracy, który brzmiał: „Wybór preparatu roślinnego charakteryzującego się najwyższą aktywnością biologiczną pod kątem chorób układu sercowo-naczyniowego”, na temat którego nie znalazłam wyraźnej odpowiedzi w rozprawie doktorskiej
- Jaki był odstęp czasowy pomiędzy przygotowaniem ekstraktów a oceną ich aktywności chemicznej oraz biologicznej? Czy ewentualna zmienna trwałość ekstraktów mogła wpłynąć na uzyskane wyniki? Czy były prowadzone przez Panią lub zespół tego rodzaju analizy?
- Czy jest szansa wykorzystania aplikacyjnego przedstawionych wyników badań?

Podsumowując, pomimo zamieszczonych uwag przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską mgr Agaty Rolnik oceniam wysoko. Uważam, że błędy i uchybienia występujące w rozprawie są wynikiem szerokiego zakresu pracy i trudności w przedstawieniu tak dużej liczby wyników w syntetyczny i jednocześnie zrozumiały sposób.

Wniosek końcowy

Na podstawie dokonanej oceny, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Agaty Rolnik pt.: „Analiza składu chemicznego preparatów z warzyw z rodziny dyniowatych (*Cucurbitaceae*) i astrowatych (*Asteraceae*) i ich wpływ na wybrane elementy hemostazy” zrealizowanej pod kierunkiem naukowym dr hab. Beaty Olas, prof. UŁ oraz prof. dr hab. Anny Stochmal w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom na stopień doktora według Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021 poz. 478 z późn. zm.). W ocenianej pracy doktorskiej wykorzystane zostały nowoczesne metody analiz w celu określenia właściwości biologicznych ekstraktów i występują tu wyraźne elementy nowości naukowej. Znalazło to odzwierciedlenie w randze czasopism naukowych, w których opublikowane zostały uzyskane wyniki badań.

W związku z tym zwracam się do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie mgr Agaty Rolnik do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Margonata Materna

