

O C E N A

rozprawy doktorskiej mgr Michała Nowaka pt: „Chemiluminescencja modyfikowanych układów Fenton’a i jej potencjalne zastosowanie do badania antyoksydacyjnych właściwości roślinnych kwasów fenolowych.”

Reaktywne formy tlenu są związkami chemicznymi endo- i egzogennymi towarzyszącymi człowiekowi przez wszystkie okresy jego rozwoju. W organizmie człowieka powstają podczas procesów utleniania i redukcji związanych z wytwarzaniem energii niezbędnej do prawidłowego jego funkcjonowania. Do najbardziej reaktywnych form tlenowych (RFT) należą wolne rodniki tlenowe takie jak anionorodnik ponadtlenkowy i rodnik wodorotlenowy. Wywoływać one mogą cały szereg niekorzystnych zjawisk biochemicznych w ustroju prowadzących do uszkodzeń białek, tłuszczów czy węglowodanów zaburzających prawidłowe funkcjonowanie organizmu w konsekwencji prowadzące do powstawania wielu schorzeń określanymi wspólnym mianem „wolnorodnikowych”.

Chroniąc się przed tymi szkodliwymi następstwami organizmy żywe wykształciły liczne mechanizmy obronne zarówno enzymatyczne jak i nieenzymatyczne niwelujące wolne rodniki i inne reaktywne formy tlenu.

W przyrodzie istnieje również cały szereg związków spotykanych w roślinach o właściwościach antyoksydacyjnych mogących wspomagać układ obrony antyoksydacyjnej człowieka, a w ostatnich latach przywiązuje się do tych właściwości coraz większą wagę i wiąże się to z rozwojem badań nad tymi związkami oraz poszukiwaniem nowych metod oceny ich działania.

Praca doktorska mgr Michała Nowaka poświęcona jest możliwościom wykorzystania do badania antyoksydacyjnych właściwości różnych roślinnych kwasów fenolowych odpowiednio modyfikowanych układów Fenton’a z wykorzystaniem metody chemiluminescencyjnej. Takie ujęcie tematu uważam za wartościowe poznawczo i odpowiadające współczesnym poszukiwaniom badawczym.

Dysertacja zawiera 76 stron wydruku komputerowego z czego 62 strony przypadają na tekst łącznie z dokumentacją, 7 stron na bibliografię, 8 stron na streszczenie w języku polskim i angielskim, 3 strony na spis tabel, rycin i wykaz zastosowanych w pracy skrótów i symboli. Dokumentacja pracy składa się z 9 tabel i 13 rycin właściwie rozmieszczonych w tekście.

W teoretycznym wstępie zawartym na 10 stronach Doktorant w sposób usystematyzowany i przejrzysty zawarł informacje dotyczące reaktywnych form tlenu ze szczególnym uwzględnieniem

wolnych rodników i reakcji z ich udziałem.

W dalszej części wstępu opisał zjawisko luminescencji i zjawisko Ultra słabej Emisji Fotonów (UPE). W końcowej części wstępu przedstawił informacje dotyczące występowania polifenoli roślinnych i ich właściwości antyoksydacyjne oraz możliwości ich wykorzystania we wspomaganie naturalnej bariery antyoksydacyjnej ustroju.

W kolejnej części rozprawy przedstawił Autor założenia i cele pracy, z których wynika, że postanowił On:

- opracować układ generujący fotony w procesie utleniania-redukcji na bazie odpowiednio modyfikowanych układów Fenton'a z użyciem Fe^{2+} -EGTA- H_2O_2 i Fe^{2+} -EDTA-AA- H_2O_2 ,
- zbadać, która z reaktywnych form tlenu jest odpowiedzialna za zjawisko ultra słabej emisji fotonów (UPE),
- w oparciu o wyniki badań własnych zaproponować możliwy mechanizm powstawania UPE w modyfikowanych układach Fenton'a,
- wykorzystać opracowany układ generatorowy do oceny antyoksydacyjnych właściwości wybranych roślinnych kwasów fenolowych o znanych właściwościach zdrowotnych takich jak: kwas ferulowy, kwas kawowy i kwas chlorogenowy.

Tak sformułowany cel pracy uważam za spójny, ciekawy, możliwy do zrealizowania i mający wymiar poznawczy i aplikacyjny.

Z danych przedstawionych w rozdziale „Materiał i metody pomiarowe” wynika, że Doktorant zastosował właściwie dobrany materiał badawczy oraz adekwatne do celu pracy metody badawcze i aparaturę pomiarową. Opis przeprowadzanych eksperymentów badawczych jest przedstawiony w sposób przejrzysty i umożliwia ich odtworzenie w każdym przypadku.

Wyniki badań poddane zostały wnikliwej analizie statystycznej z zastosowaniem właściwie dobranych testów.

Z przeprowadzonych przez Doktoranta doświadczeń wynika, że układ Fe^{2+} -EGTA- H_2O_2 emituje światło zależnie od stężeń poszczególnych składników w warunkach zachowania stałego stosunku molowego pomiędzy składnikami i zależność ta nie jest liniowa.

Zastąpienie Fe^{2+} innymi kationami dwuwartościowymi (chrom, kobalt, mangan czy miedź) spowodowało niemal całkowite zahamowanie emisji światła.

Podobny efekt uzyskano po zmianie EGTA na EDTA lub cytrynian. Świadczy to o tym, że zjawisko UPE jest charakterystyczne dla układu Fe^{2+} -EGTA- H_2O_2 i nie występuje w układach z innymi kationami dwuwartościowymi lub innymi chelatorami zmieszany z H_2O_2 .

W przypadku drugiego układu Fenton'a Fe^{2+} -EDTA-AA- H_2O_2 uzyskał Autor podobną odpowiedź wskazującą na to, że emisja światła jest również charakterystyczna dla tego układu i nie występuje

w przypadku kombinacji z innymi kationami dwuwartościowymi lub innymi chelatorami metali.

Analizując kolejne etapy eksperymentów zauważa Autor słusznie, że emisja światła w układzie Fe^{2+} -EGTA- H_2O_2 zależna jest od rodników wodorotlenowych i częściowo od rodników ponadtlenkowych, a emisja światła w układzie Fe^{2+} -EDTA-AA- H_2O_2 jest zależna tylko od rodników wodorotlenowych.

Przedstawiając proponowany mechanizm generowania światła w badanych przez siebie układach stwierdza Doktorant, że bezpośrednim źródłem światła w obu układach są powstające tripletowo wzbudzone grupy karbonylowe. W układzie Fe^{2+} -EGTA- H_2O_2 powstają one w następstwie pęknięcia wiązań eterowych w cząsteczce EGTA pod wpływem jonów wodorotlenowych.

W drugim z badanych układów Fe^{2+} -EDTA-AA- H_2O_2 produkty utleniania EDTA i AA tworzą wiązania estrowe, które pękając pod wpływem rodników wodorotlenowych przekształcają się we wzbudzone grupy karbonylowe.

Realizując kolejne eksperymenty związane z celem pracy Doktorant stwierdził, że emisja światła w układzie Fenton'a Fe^{2+} -EGTA- H_2O_2 jest silnie hamowana przez badane roślinne kwasy fenolowe (ferulowy, kawowy, chlorogenowy) i kwas askorbinowy, a zjawisko to może mieć szerokie zastosowanie w badaniach nad antyoksydacyjnymi właściwościami nie tylko polifenoli ale i innych fitozwiązków.

Z kolei emisja światła w drugim badanym układzie Fenton'a z udziałem Fe^{2+} -EDTA-AA- H_2O_2 jest silnie wzmacniana przez badane roślinne kwasy fenolowe, a zjawisko to zdaniem Autora może być wykorzystane do wykrywania i pomiaru stężeń kwasów fenolowych i innych polifenoli w wyciągach roślinnych wykorzystywanych w wytwarzaniu preparatów o właściwościach antyoksydacyjnych.

W rozdziale zatytułowanym „Dyskusja wyników” Doktorant poddał wnikliwej i przemyślanej analizie wyniki badań własnych i skonfrontował je z aktualnymi danymi z piśmiennictwa. Ta część rozprawy świadczy o bardzo dobrym merytorycznym przygotowaniu Autora rozprawy oraz o dużej dojrzałości naukowej. Świadczą o tym zwłaszcza ostatnie fragmenty dyskusji zatytułowane „Mocne i słabe strony moich doświadczeń”, gdzie w sposób krytyczny ocenia Autor rezultaty swoich doświadczeń i uzyskane wyniki badań. Rozprawę kończy Doktorant pięcioma wnioskami w całości odpowiadającymi celom postawionym w pracy. Wszystkie z nich mają nie tylko wartość poznawczą ale i aplikacyjną.

Bibliografia zawiera 82 pozycje w przeważającej większości anglojęzyczne, przedstawione w kolejności cytowania w tekście rozprawy, w 60% pochodzące z bieżącego stulecia.

W pracy spostrzegłem pojedyncze drobne niedociągnięcia stylistyczne i edytorskie w niczym nie umniejszające wysokiej wartości pracy, które przekazałem Doktorantowi i mam nadzieję, że zostaną one uwzględnione podczas ostatecznej jej redakcji.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska mgr Michała Nowaka dowodzi w pełni osiągnięcia zamierzonego celu. Autor wykazał się dużą wiedzą i umiejętnie ją wykorzystał tak w badaniach naukowych jak i pisaniu pracy. Wyniki badań uzyskane przez Doktoranta mają bez wątpienia nie tylko znaczenie poznawcze ale przede wszystkim bardzo duże aplikacyjne, pozwalające wykorzystać je praktycznie w badaniach nad właściwościami antyoksydacyjnymi wielu preparatów mogących mieć zastosowanie w szeroko pojętych działaniach prozdrowotnych.

W tym miejscu chciałbym pogratulować Promotorowi jak i Doktorantowi za wybór trafnego i ciekawego problemu badawczego oraz konsekwentnej jego realizacji.

Reasumując uważam rozprawę doktorską mgr Michała Nowaka pt: „Chemiluminescencja modyfikowanych układów Fenton’a i jej potencjalne zastosowanie do badania antyoksydacyjnych właściwości roślinnych kwasów fenolowych.” za podejmującą bardzo ciekawy i praktyczny problem badawczy, zawierającą oryginalne i ciekawe wyniki, należycie opracowane i właściwie przedstawione.

Praca jest bardzo wartościowym opracowaniem zawierającym elementy innowacyjności i zdaniem recenzenta zasługuje na wyróżnienie spełniając kryteria zawarte w Uchwale Nr 5/2014 Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z dnia 03.06.2014r. Doktorant jest pierwszym autorem w 2 pracach opublikowanych w czasopismach Molecules (2018) i Luminescence (2019) o łącznym IF = 4,68.

Praca mgr Michała Nowaka spełnia wszystkie ustawowe wymogi stawiane tego typu dysertacjom, oceniam ją bardzo wysoko i składam do Wysokiej Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Łódź, 18.03.2019r.



Prof. dr hab. n. med. Jan Błaszczuk