

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 towarzyszącymi człowiekowi przez cały okres jego rozwoju. W jego organizmie 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, które mogą powodować szereg niekorzystnych zjawisk biochemicznych w ustroju zaburzających prawidłowe funkcjonowanie organizmu i prowadzące do powstawania wielu schorzeń określanych wspólnym mianem „wolnorodnikowych”. Organizmy żywe wykształciły liczne mechanizmy obronne niwelujące wolne rodniki i inne reaktywne formy tlenu. Istnieje wiele związków spotykanych w roślinach o właściwościach antyoksydacyjnych, które wspomagają układ obrony antyoksydacyjnej człowieka. Przywiązuje się do tych właściwości coraz większą wagę i wiąże się to z rozwojem badań nad tymi związkami oraz poszukiwaniem metod oceny ich działania.

Rozprawa 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 podejście do tematu uważam za wartościowe i odpowiadające współczesnym poszukiwaniom badawczym.

Dysertacja zawiera 76 stron, w tym 62 strony stanowi tekst wraz z dokumentacją, 7 stron bibliografia, 8 stron streszczenie w języku polskim i angielskim, 3 strony spis tabel, rycin i wykaz zastosowanych w pracy skrótów i symboli.

Dokumentacja pracy zawiera 9 tabel i 13 rycin właściwie rozmieszczonych w tekście.

We wstępie Doktorant w sposób przejrzysty zawarł informacje dotyczące reaktywnych form tlenu ze szczególnym uwzględnieniem wolnych rodników i reakcji z ich udziałem. Następnie opisał zjawisko luminescencji i zjawisko Ultra słabej Emisji Fotonów (UPE). W końcowej części zawarł informacje dotyczące występowania polifenoli roślinnych, ich właściwości antyoksydacyjne oraz ich wykorzystanie we wspomaganiu naturalnej bariery antyoksydacyjnej ustroju.

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

- opracować układ generujący fotony w procesie utleniania-redukcji na bazie odpowiednio modyfikowanych układów Fenton’a;
- zbadać, która z reaktywnych form tlenu jest odpowiedzialna za zjawisko ultra słabej emisji fotonów (UPE),

- następnie na podstawie wyników badań własnych Autor prezentuje możliwy mechanizm powstawania UPE w modyfikowanych układach Fenton'a i zamierza 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, oryginalny i możliwy do zrealizowania oraz mający wymiar poznawczy i aplikacyjny.

Z przedstawionych materiału i metod pomiarowych wynika, że Doktorant zastosował właściwie dobrany materiał badawczy oraz adekwatne do celu pracy metody badawcze i aparaturę pomiarową. Opis przeprowadzanych analiz badawczych przedstawiony jest w sposób przejrzysty i umożliwia ich odtworzenie w każdym przypadku.

Wyniki badań, po zastosowaniu właściwie dobranych testów, poddane zostały wnikliwej analizie statystycznej.

Z przeprowadzonych przez Doktoranta badań 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 zmieszanyymi 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. Autor analizując kolejne etapy eksperymentów zauważa słusznie, że emisja światła w układzie Fe^{2+} -EGTA- H_2O_2 zależna jest od rodników wodorotlenowych i częściowo od rodników ponadtlenkowych. Natomiast emisja światła w układzie Fe^{2+} -EDTA-AA- H_2O_2 jest zależna tylko od rodników wodorotlenowych.

Na podstawie proponowanych mechanizmów 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. Natomiast 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. W dalszych etapach związanych z celami 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. Zdaniem Autora słusznie zjawisko to może mieć szerokie zastosowanie w badaniach nad antyoksydacyjnymi właściwościami nie tylko polifenoli ale i innych fitozwiązków. Natomiast emisja światła w drugim badanym układzie Fenton'a z udziałem Fe^{2+} -EDTA-AA- H_2O_2 jest silnie wzmocniana 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 omówieniu wyników Doktorant poddał wnikliwej analizie wyniki badań własnych i skonfrontował je z aktualnymi danymi z piśmiennictwa. Świadczy to o bardzo dobrym merytorycznym przygotowaniu Autora rozprawy oraz o Jego dojrzałości naukowej. Świadczą o tym zwłaszcza ostatnie fragmenty dyskusji zatytułowane „Mocne i słabe strony moich doświadczeń”, gdzie w sposób fachowy i krytyczny ocenia Autor rezultaty swoich doświadczeń i uzyskane wyniki badań. Doktorant rozprawę kończy pięcioma wnioskami w całości odpowiadającymi celom postawionym w pracy. Wszystkie z nich mają nie tylko dużą wartość poznawczą ale i aplikacyjną.

Bibliografia zawiera 82 pozycje, w 60% pochodzące z bieżącego stulecia, w przeważającej większości anglojęzyczne, przedstawione w kolejności cytowania w tekście rozprawy. Pojedyncze drobne niedociągnięcia stylistyczne i edytorskie, które przekazałem Doktorantowi i mam nadzieję, że zostaną one uwzględnione podczas ostatecznej jej redakcji w niczym nie umniejszające wysokiej wartości pracy.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa 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. Promotorowi i Doktorantowi należą się słowa uznania za wybór trafnego problemu badawczego oraz konsekwentnej jego realizacji.

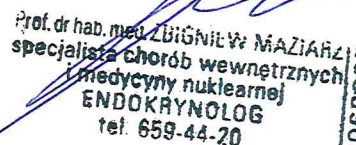
Podsumowując przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską mgr Michała Nowaka uważam za podejmującą bardzo ciekawy i praktyczny problem badawczy, zawierającą oryginalne i istotne wyniki, dobrze opracowane i właściwie przedstawione.

Doktorant jest pierwszym autorem w 2 pracach opublikowanych w czasopiśmie Molecules (2018) i Luminescence (2019) o łącznym IF = 4,68.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska jest bardzo wartościowym opracowaniem i zawiera elementy innowacyjności. 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.

Praca mgr Michała Nowaka spełnia wszystkie wymogi stawiane tego typu rozprawom. Oceniam ją wysoko i składam do Wysokiej Rady Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o wyróżnienie rozprawy i dopuszczenie Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof.dr hab.n.med. Zbigniew Maziarz


Prof. dr hab. med. ZBIGNIEW MAZIARZ
specjalista chorób wewnętrznych
i medycyny nuklearnej
ENDOKRYNOLOG
tel. 659-44-20
1068827

Łódź, 25.03.2019r.