

Ocena pracy doktorskiej mgr Ewy Gapys
pt. „Mechanistyczne aspekty reaktywności wodoronadtlenków generowanych na
aminokwasach, peptydach i białkach”

Dysertacja mgr Ewy Gapys to przykład bardzo solidnej i innowatorskiej pracy z zakresu chemii fizycznej. Koncepcja badań ujęta w ramach rozprawy jest mocno osadzona w tematyce badawczej zespołu kierowanego przez prof. Andrzeja Marcinka i dotyczy mechanistycznego opisu detekcji grup wodoronadtlenkowych generowanych na aminokwasach, peptydach i białkach z wykorzystaniem profluorescencyjnych próbników boronowych. Wedle mojej wiedzy jest to pierwsza, bezpośrednia obserwacja efektu peroksydacyjnego na modelowych układach, o wysokim – w kontekście aktualnego stanu wiedzy, techniki i technologii – potencjale aplikacyjnym. Jak bowiem powszechnie wiadomo, oksydacyjne modyfikacje struktury białek prowadzące do utraty ich właściwości biologicznych obserwuje się w wielu stanach patologicznych, w tym także w procesie apoptozy. Tworzenie i kumulowanie się utlenionych produktów białkowych odgrywa istotną rolę zarówno w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych (choroba Alzheimera, Parkinsona), jak i naczyniowych, szczególnie w miażdżycy oraz w cukrzycy. O ile jednak możliwość efektywnego monitorowania znaczników stresu oksydacyjnego białek, takich jak aldehydy, ketony czy nitrotyrozyna jest z łatwością realizowana, o tyle ocena stopnia uszkodzeń oksydacyjnych w strukturze białek poprzez detekcję wysoce nietrwałych form wodoronadtlenkowych jak dotychczas uznawana była za proces trudny.

W efekcie podjętych prac badawczych opracowano prostą i bezpośrednią metodę detekcji wodoronadtlenków aminokwasów, peptydów i białek z wykorzystaniem próbniaka 7-boronokumarynowego (CBA). W toku dalszych badań, wykorzystując metodę reakcji konkurencyjnych i próbnik CBA jako związek odniesienia, zbadana została również reaktywność wodoronadtlenków trzech aminokwasów względem wybranych salenowych kompleksów manganu (III). I choć efekt terapeutyczny badanych kompleksów nie był spektakularny, zakres prac badawczych jednoznacznie dowiódł, że opracowane narzędzie badawcze może być z powodzeniem stosowane do rutynowych predykcji aktywności przeciwutleniającej potencjalnych terapeutyków.

Wykonanie powyższych badań było czasochłonne, pracochłonne i wymagało dyscypliny. Podobnie jak i z resztą staranne zredagowanie dysertacji, która wolna jest od zbędnego wodolejstwa, napisana poprawną polszczyzną i utrzymana na poziomie dyskursu naukowego. Znalazłam jedynie nieliczne usterki redakcyjne, do których w zasadniczej części recenzji odnosić się nie będę.

Jednak jak każdy recenzent mam oczywiście kilka uwag, które pojawiły się w trakcie czytania rozprawy:

- ✓ W moim odczuciu niezbyt trafnie został dobrany tytuł rozdziału 2.2 „*Mechanizm tworzenia wodoronadtlenków organicznych i ich rola w organizmie*”. O ile bowiem mechanizm tworzenia wodoronadtlenków został przedstawiony wyczerpująco i bardzo precyzyjnie, o tyle do charakterystyki ich roli w organizmie Autorka ogranicza się jedynie do kilku, bardzo ogólnikowych, stwierdzeń
- ✓ Niezbyt szczęśliwie Autorka sformułowała myśl na stronie 61 odnośnie ebselenu: „*Jednak oficjalnie nigdy nie został lekiem ze względu na niewystarczającą skuteczność jaką wykazywał w badaniach klinicznych względem placebo*”
- ✓ W rozdziale 6.1. *Cel i zakres badań* Autorka pisze: „*Aby bezpośrednio wykluczyć bądź potwierdzić udział wodoronadtlenków aminokwasów, peptydów i białek w różnych stanach patofizjologicznych należy opracować narzędzie pozwalające na ich szybką i ilościową detekcję. Zastosowanie takiego narzędzia pozwoli znaleźć odpowiedź czy, **gdzie** i w jakiej ilości produkowane są wodoronadtlenki aminokwasów, peptydów i białek i jaki jest ich udział w procesie chorobowym*”. O ile opracowane narzędzie rzeczywiście pozwala na ilościową detekcję generowanych wodoronadtlenków o tyle nie jestem przekonana co do możliwości jego bezpośredniego zastosowania do określenia sposobu rozmieszczenia utworzonych form nadtlenkowych w łańcuchu polipeptydowym
- ✓ Dlaczego na Rys. 25 i 36 pokazanych jest mniej przebiegów kinetycznych niż punktów uwzględnionych na insercie (odpowiednio 6 przebiegów kinetycznych i 7 stałych szybkości na Rys. 25, oraz 8 przebiegów kinetycznych i 12 stałych szybkości na Rys. 36)
- ✓ Na Rys. 30, 33 i 39 porównanie przebiegów kinetycznych po fotolizie/CAT stosunek intensywności końcowych w wodzie zwykłej i deuterowanej jest bliski 2 dla wszystkich układów z wyjątkiem LizOOH. Czym podyktowana jest ta zmiana? Czy rozważany był rozpuszczalnikowy efekt izotopowy reakcji? Przebiegi kinetyczne dla LizOOH i BSAOOH po fotolizie bez CAT wskazują na udział reakcji z H_2O_2 , która może wykazywać efekt izotopowy.
- ✓ Na Rys. 38B przybliżono zależność stałej pseudopierwszego rzędu od stężenia CBA funkcją liniową przechodzącą przez początek układu. Jednak przebieg punktów doświadczalnych wskazuje na zachodzenie w niewielkim stopniu reakcji nawet w nieobecności CBA.

Powyższe krytyczne uwagi nie umniejszają mojej bardzo pozytywnej oceny recenzowanej pracy doktorskiej Pani mgr Ewy Gapys. Autorka rozprawy opracowała oryginalne dzieło, w którym przedstawiła mechanistyczne aspekty reaktywności wodoronadtlenków generowanych na aminokwasach, peptydach i białkach względem próbników boronowych. Walorem metodologicznym rozprawy jest także innowacyjne – opracowane na jej potrzeby – narzędzie badawcze pozwalające na ich szybką i ilościową detekcję. Na bardzo pozytywne podkreślenie zasługuje również argumentacja teoretyczna w toku formułowania hipotez badawczych oraz odwołanie się do ugruntowanych teorii w interpretacjach wyników prac własnych. Bogaty zestaw publikacji zawarty w bibliografii (233 pozycje) świadczy zarazem o wysokim poziomie erudycji Autorki rozprawy. Tak więc, z całą mocą pragnę podkreślić, iż opiniowana rozprawa doktorska zasługuje na szczególne uznanie. **W świetle**

wyżej przedstawionej, bardzo pozytywnej oceny całej rozprawy doktorskiej mgr Ewy Gapys, w tym wartości oryginalnych wyników o charakterze poznawczym stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania Ustawy o Stopniach i Tytułach Naukowych, które są stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora. Stąd, z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej o dopuszczenie mgr Ewy Gapys do dalszych etapów przewodu doktorskiego. W moim przekonaniu rozprawa ta zasługuje na wyróżnienie, jednakże z przesłanego mi regulaminu wynika, że nie spełnia ona wymogów formalnych wyróżniania prac doktorskich na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej dlatego nie sformułowałam odpowiedniego osobnego wniosku.

panesh orqote