



WARSZAWSKI
UNIwersytet
MEDYCZNY

RN-BF 4000. l. 2019
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RPN 1281/2024
RADY DISCYPLINY NAUKI FARMACEUTYCZNE
Podpis ... *Izabela Fecka* ...
23.01.2024

KATEDRA I ZAKŁAD BIOLOGII FARMACEUTYCZNEJ

Warszawa, 15.01.2024 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Bednarskiej
pt. „Potencjał wybranych środków wazoprotekcyjnych i substancji roślinnych
do hamowania nieenzymatycznej glikacji oraz pułapkowania reaktywnych
związków α -dikarbonylowych”

Przedłożona do recenzji praca doktorska Pani mgr Katarzyny Bednarskiej została wykonana w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Leku Roślinnego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Promotorem pracy jest Pani prof. dr hab. n. farm. Izabela Fecka.

Recenzowana praca jest spójnym tematycznie zbiorem czterech oryginalnych publikacji naukowych:

- P1. Bednarska K. & Fecka I. *Potential of Vasoprotectives to Inhibit Non-Enzymatic Protein Glycation, and Reactive Carbonyl and Oxygen Species Uptake. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22(18), 10026.*
- P2. Bednarska K., Fecka I. Scheijen J.L.J.M., Sanne A., Vangrieken P. & Schalkwijk C.G. *A Citrus and Pomegranate Complex Reduces Methylglyoxal in Healthy Elderly Subjects: Secondary Analysis of a Double-Blind Randomized Cross-Over Clinical Trial. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24(17), 13168.*
- P3. Bednarska K., Kuś P. & Fecka I. *Investigation of the Phytochemical Composition, Antioxidant Activity, and Methylglyoxal Trapping Effect of Galega officinalis L. Herb In Vitro. Molecules 2020, 25(24), 5810.*
- P4. Bednarska K. & Fecka I. *Aspalathin and Other Rooibos Flavonoids Trapped -Dicarbonyls and Inhibited Formation of Advanced Glycation End Products In Vitro. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23(23), 14738.,*

w których Doktorantka jest pierwszą autorką. Ponadto w trzech publikacjach: P1, P2 i P3 jest autorką korespondencyjną. Dołączone oświadczenia współautorów o wkładzie w wybrane publikacje w cyklu wskazują na znaczący udział Doktorantki w ich realizację. Sumaryczna punktacja dorobku naukowego stanowiącego rozprawę doktorską wynosi 560 punktów MEiN, a wartość współczynnika oddziaływania (IF) 21,800.

Badania opisane w publikacjach P1, P3 oraz P4 były finansowane ze środków Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu w ramach dwóch projektów badawczych (numer projektu: STM.D110.20.131 oraz SUBK.D110.22.045), w jednym z nich Doktorantka pełniła funkcję kierownika. Natomiast badania opisane w publikacji P2 powstały we współpracy z naukowcami z Uniwersytetu w Maastricht w Holandii oraz holenderską firmą BioActor BV wytwarzającą suplementy diety z substancji roślinnych.

Załączone do dysertacji publikacje poprzedza autoreferat w postaci monografii, obejmujący 51 stron. Ma on postać klasycznej dysertacji. Zawiera wykaz publikacji naukowych wchodzących w skład cyklu, streszczenia w językach polskim i angielskim, wprowadzenie, cel podjętych badań, materiał i metody, najważniejsze wyniki i podsumowanie, wnioski oraz piśmiennictwo cytowane. Do autoreferatu dołączone są również osiągnięcia Doktorantki wskazujące na Jej znaczącą aktywność naukową. Doktorantka brała udział w realizacji pięciu projektów badawczych. Jest współautorką trzech oryginalnych publikacji naukowych związanych z tematyką rozprawy doktorskiej, ale nie włączonych do cyklu prac objętych doktoratem. Ponadto wyniki swoich badań prezentowała na czterech konferencjach naukowych, łącznie w formie siedmiu plakatów i wystąpienia ustnego. Całkowity dorobek naukowy Doktorantki wynosi 1050 punktów ministerialnych i IF = 35,620. Co istotne, Doktorantka rozwijała również swoje umiejętności z zakresu niekomercyjnych badań klinicznych na stażu w Katedrze Medycyny Wewnętrznej Uniwersytetu w Maastricht. Ukończyła też szereg kursów i szkoleń z zakresu medycznego, analizy chemicznej oraz planowania i zarządzania zespołem badawczym oraz projektem badawczym. Te wymienione powyżej aktywności miały zapewne znaczenie w prowadzeniu i jakości badań z obszaru pracy doktorskiej i przyniosą korzyści w dalszej pracy naukowej Doktorantki.

Podjęta przez Doktorantkę tematyka badawcza wpisuje się w aktualny i istotny z poznawczego oraz aplikacyjnego punktu widzenia nurt badań z zakresu poszukiwań związków biologicznie czynnych w materiale roślinnym różnego pochodzenia. Tematyka dotyczy również zjawiska hiperglikemii, które ma znaczący udział w patomechanizmie angiopatii cukrzycowej poprzez aktywację kilku szlaków metabolicznych. Jednym z nich jest nieenzymatyczna glikacja białek, mająca charakter spontaniczny, zależny od stężenia w organizmie cukrów prostych. Proces glikacji polega na nieenzymatycznym przyłączeniu cukrów do makromolekuł, w tym białek, które charakteryzują się dużą liczbą wolnych grup aminowych. Wynikiem tego procesu jest powstanie końcowych produktów zaawansowanej glikacji (AGEs - advanced glycation end products). AGEs mają specyficzne receptory błonowe na pewnych typach komórek, dlatego też powodują destrukcję wielu struktur komórkowych, zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio, przez indukowanie stresu oksydacyjnego i zjawiska gliko- oraz lipooksydacji. W cukrzycy, spośród białek podlegających nieenzymatycznej glikacji, duże znaczenie mają hemoglobina, albumina, kolagen i krystalina. Glikacja kolagenu i innych białek macierzy doprowadza do sztywnienia ścian naczyń żylnych i tętniczych, natomiast glikacja krystaliny soczewki oka jest przyczyną tworzenia się zaćmy. Tym samym każde badania



dążące do poszukiwania nowych rozwiązań dotyczących poprawy skuteczności leczenia przewlekłej choroby metabolicznej, jaką jest cukrzyca, stanowią ciągłe wyzwanie dla naukowców i mają ogromne znaczenie dla rozwoju nauki. Opracowanie takiego leku, który hamowałoby proces glikacji oraz wychwytywał reaktywne związki α -dikarbonylowe miałyby przełomowe znaczenie w terapii cukrzycy i wielokierunkowych powikłań z nią związanych.

Uzasadnione są zatem badania podjęte przez Doktorantkę. Cele cząstkowe i badania z nimi związane są przedstawione w 4 recenzowanych publikacjach i stanowią podstawę rozprawy. Natomiast wiodącym celem badawczym łączącym zakresy badań przedstawionych w 4 publikacjach była identyfikacja nowych substancji o wysokim potencjale antyglukacyjnym i/lub pułapkującym związki α -dikarbonylowe (α -DC) w porównaniu do aminoguanidyny, metforminy i kwercetyny - uznanych związków o przytoczonej powyżej aktywności. Do badań wybrano naturalne i syntetyczne środki z grupy leków wazoprotekcyjnych oraz flawonoidy i flawonoidowe substancje roślinne o profilu działania wskazanym w celu pracy. Uzyskano obiecujące i wartościowe wyniki. Doktorantka wykazała, że badane związki posiadają zdolność do hamowania procesu nieenzymatycznej glikacji. Niektóre z nich mają także silne właściwości wiążące związki α -dikarbonylowe. Hesperetyna, hesperydyna, kwercetyna, izowitekyna, witekyna i floretyna okazały się związkami najsilniej hamującymi proces glikacji w modelu *in vitro* z jednoczesnym efektem pułapkującym metyloglioksal (MGO). Związki te swoim działaniem przewyższyły aminoguanidynę i metforminę. Hesperydyna, w dawce 450 mg w badaniu *in vivo* u pacjentów, istotnie statystycznie obniżała stężenie MGO w osoczu w porównaniu z placebo. Natomiast badania fitochemiczne oraz testy *in vitro* potwierdziły, że ziele rutwicy (*Galega officinalis*) i rooibos (*Aspalathus linearis*), stosowane jako środki hipoglikemizujące i wspomagające układ krążenia zawierają związki guanidynowe, flawonoidowe i polifenole pułapkujące α -DC oraz wykazujące silny efekt antyoksydacyjny i antyglukacyjny.

Reasumując, recenzowana rozprawa doktorska zawiera elementy nowości naukowej, wnosi elementy poznawcze oraz jest bardzo dobrze zaplanowanym oryginalnym zagadnieniem naukowym. Po raz pierwszy przebadano substancje roślinne tradycyjnie stosowane w łagodzeniu objawów cukrzycy, czy jako środki wspomagające układ krążenia, zawierające metabolity wtórne, których struktura chemiczna i profil działania wskazują na skuteczność w zmniejszeniu stężeń α -dikarbonyli i końcowych produktów zaawansowanej glikacji. Wykazano także zdolność do wiązania reaktywnych dikarbonyli przez bioflawonoidy, takie jak hesperetyna, hesperydyna, diosmetyna. Potwierdzono również zależności między strukturą a aktywnością flawonoidów. Tematyka pracy jest aktualna i istotna w obszarze badań biologicznych oraz badań związków naturalnych w materiale roślinnym o potencjale terapeutycznym. Wskazuje na wszechstronną wiedzę teoretyczną Doktorantki w reprezentowanej dyscyplinie naukowej, umiejętność prowadzenia prac eksperymentalnych oraz właściwą ich interpretację.



Na podkreślenie zasługują stosowane w pracy nowoczesne i odpowiadające współczesnym wymaganiom dla tych kierunków poszukiwań techniki badawcze. W badaniach stosowano metody chromatograficzne, spektrometryczne, spektrofotometryczne i spektrofluorymetryczne. Ponadto praca jest bardzo dobrze napisana pod względem formalno-językowym, stylistycznym, interpunkcyjnym oraz edytorskim.

Podjmując głos w dyskusji prosiłabym Doktorantkę o ustosunkowanie się do następujących zagadnień:

- czym kierowała się Pani przy wyborze surowców do badań?
- wyniki Pani pracy doktorskiej wykazały, że związki wazoprotekcyjne, ich analogi i flawonoidowe substancje roślinne posiadają zdolność do hamowania procesu nieenzymatycznej glikacji. Jakie inne działania może podjąć pacjent, aby wspomóc zatrzymanie procesu glikacji w organizmie?
- obecnie w diagnostyce hiperglikemii stosuje się oznaczenie glikowanej hemoglobiny (HbA_{1c}) i albuminy. Jednak wiele badań wskazuje, że okres półtrwania glikowanej hemoglobiny jest stosunkowo krótki, co utrudnia traktowanie jej jako biomarkera przebiegu cukrzycy. Ponadto uważa się, że HbA_{1c} ma znaczenie prognostyczne dopiero wówczas, gdy bierze się pod uwagę średnią wyliczoną z jej oznaczeń dokonywanych w ciągu wielu lat. W swojej pracy wspomina Pani, że stężenie MGO – produktu ubocznego glikolizy jest istotnie statystycznie podwyższone w hiperglikemii, ale także z angiopatii, nadciśnieniu tętniczym, dyslipidemii, czy otyłości. Czy wobec tego MGO lub AGEs mogłoby być wykorzystane jako bardziej precyzyjne biomarkery pozwalające na monitorowanie cukrzycy i innych schorzeń z nią związanych?
- jak widzi Pani kontynuację badań z zakresu tematyki doktoratu?

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska autorstwa mgr Katarzyny Bednarskiej spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Katarzyny Bednarskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Biorąc pod uwagę, że rozprawa doktorska została opublikowana w czterech publikacjach o wysokim współczynniku oddziaływania (IF = 21,800) oraz ze względu na elementy nowości i proaplikacyjny charakter przeprowadzonych badań w zakresie poszukiwania związków i substancji roślinnych o potencjalnym zastosowaniu w terapii cukrzycy i wielokierunkowych powikłań z nią związanych, wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Katarzyny Bednarskiej.