



# UNIwersytet Medyczny w Białymstoku

## Zakład Toksykologii

ul. Adama Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok

Tel.: (85) 748 56 04 fax: 85 748 58 34

e-mail: toxic@umb.edu.pl

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Małgorzata M. Brzoska

e-mail: malgorzata.brzoska@umb.edu.pl

---

Białystok, dnia 07.04.2022 r.

### RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr farm. Moniki Kurpik**

**pt. „Ocena neuroprotektoryjnych właściwości soków z owocu granatu i żurawiny  
w modelu zwierzęcym choroby Parkinsona”**

**na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki farmaceutyczne**

**wykonanej w Katedrze i Zakładzie Toksykologii  
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu**

**Promotor: prof. dr hab. Jadwiga Jodynis - Liebert  
Promotor pomocniczy: dr hab. Małgorzata Kujawska**

#### **Podstawa formalna recenzji**

Oceny rozprawy doktorskiej mgr farm. Moniki Kurpik dokonano na podstawie uchwały nr 41/2022 Kapituły Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z dnia 27 stycznia 2022 r. Recenzję przygotowano zgodnie z kryteriami określonymi w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce.

#### **Ocena formalna rozprawy doktorskiej**

Dysertacja przedstawiona do recenzji została przygotowana w formie monografii i ma układ typowy dla eksperymentalnych rozpraw doktorskich. Praca liczy 107 stron standardowego wydruku komputerowego i jest podzielona na 9 rozdziałów głównych, które stanowią „Wstęp” (12 stron), „Cel pracy” (1 strona), „Część doświadczalna” (10 stron), „Wyniki badań” (47 stron), „Dyskusja” (11 stron), „Podsumowanie i wnioski” (1 strona), „Piśmiennictwo” (10 stron; 124 pozycje), „Streszczenie” (3 strony) i „Summary” (2 strony). Na końcu rozprawy Autorka zamieściła kopię uchwały Lokalnej Komisji

Etycznej do spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu w sprawie wyrażenia zgody na przeprowadzenie doświadczeń na zwierzętach w modelu wykorzystywanym w badaniach wchodzących w zakres pracy doktorskiej oraz oświadczenie o samodzielnym przygotowaniu rozprawy z nienaruszeniem obowiązujących zasad. Wstęp rozprawy poprzedza szczegółowy „Spis treści” i „Wykaz zastosowanych skrótów”. Praca zawiera 44 tabele i 44 ryciny.

### **Ocena merytoryczna i metodologiczna rozprawy doktorskiej**

Choroby neurodegeneracyjne należą do głównych chorób cywilizacyjnych dotykających miliony ludzi na całym świecie, a choroba Parkinsona jest drugim co do częstości występowania schorzeniem neurodegeneracyjnym. Rosnąca zapadalność na choroby układu nerwowego, w tym zwłaszcza choroby neurodegeneracyjne, wraz z prognozami wzrostu częstości ich występowania, sprawia, że bardzo istotne jest, z jednej strony poznanie możliwych czynników ryzyka tych schorzeń, z drugiej zaś strony poszukiwanie skutecznych sposobów zapobiegania ich rozwojowi. Choroba Parkinsona jest schorzeniem nieuleczalnym i postępującym. Dotychczas brak jest skutecznych metod jej leczenia przyczynowego i stosuje się jedynie długotrwałe leczenie objawowe. Stąd też kluczowe znaczenie ma poszukiwanie czynników, które będą zapobiegały tej chorobie lub spowalniały jej rozwój.

Podjęcie przez Panią mgr farm. Monikę Kurpik badań mających na celu ocenę właściwości neuroprotektoryjnych soków z owoców granatu i żurawiny w modelu doświadczalnym choroby Parkinsona jest zatem w pełni uzasadnione i celowe. Problematyka naukowa podjęta w pracy doktorskiej przedłożonej do oceny posiada istotny aspekt poznawczy oraz praktyczny i bardzo dobrze wpisuje się w aktualne kierunki badań w zakresie wykorzystania substancji pochodzenia naturalnego w profilaktyce różnych schorzeń, w tym chorób cywilizacyjnych.

Ze względu na kluczowy udział zaburzeń równowagi oksydacyjno - redukcyjnej, skutkujących rozwojem stresu oksydacyjnego, w patogenezie schorzeń neurodegeneracyjnych, w tym choroby Parkinsona, szczególną uwagę w badaniach nad potencjalnymi czynnikami protekcyjnymi poświęca się substancjom o wysokim potencjale antyoksydacyjnym, w tym związkom polifenolowym. Soki z owoców granatu i żurawiny są cennym źródłem tych związków. Wybór soków z tych owoców jako czynników o potencjalnym działaniu protekcyjnym w odniesieniu do choroby Parkinsona został dobrze przemyślany. Polifenole o wysokim potencjale antyoksydacyjnym występują w wielu

produktach pochodzenia roślinnego, jednak możliwość działania neuroprotekcynowego tych związków jest determinowana ich zdolnością do przenikania przez barierę krew - mózg. W soku z owoców granatu są obecne związki polifenolowe o charakterze tanin hydrolizujących – elagotanniny, które są metabolizowane przy udziale mikrobiomu jelitowego do urolityn, mających zdolność przenikania przez barierę krew - mózg. Z kolei w soku z owoców żurawiny występują niehydrolizujące taniny skondensowane – proantocyjanidyny. Niezwykle trafnym było również zastosowanie w badaniach zwierzęcego modelu rotenonowego choroby Parkinsona. Model ten w dużym stopniu naśladuje patogenezę choroby Parkinsona u człowieka, w związku z czym jest właściwy do oceny potencjalnego działania protekcynowego w odniesieniu do rozwoju tego schorzenia. Badania cechuje oryginalność i nowatorski charakter. Działanie neuroprotekcynowe soku z owoców granatu zostało wprawdzie już wcześniej udowodnione, jednak efekt ten w odniesieniu do choroby Parkinsona jest dotychczas słabo poznany, natomiast działanie neuroprotekcynowe soku z owoców żurawiny nie było w ogóle badane. Zespół Badaczy z Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, którego członkiem jest Pani mgr farm. M. Kurpik, w badaniach autorskich, podjął się tego niezwykle istotnego z punktu widzenia ewentualnego przyszłego wykorzystania w praktyce, a zarazem trudnego zadania. Należy podkreślić, iż część wyników badań w tym zakresie została już opublikowana w formie dwóch artykułów oryginalnych w liczących się czasopismach o zasięgu światowym (International Journal of Molecular Sciences, 2019 i Brain Sciences, 2021), a Doktorantka jest współautorem obu prac i powołuje się na nie w dyskusji wyników badań własnych. Pozwala to przypuszczać, iż Pani Magister wkrótce opublikuje również wyniki swojej rozprawy doktorskiej, co będzie stanowiło cenne uzupełnienie piśmiennictwa naukowego o kolejne dane wskazujące, iż soki z owoców granatu i żurawiny są potencjalnymi czynnikami do zastosowania w zapobieganiu rozwojowi choroby Parkinsona.

„Wstęp” rozprawy doktorskiej stanowi bardzo rzeczowe wprowadzenie do tematyki podjętych badań. Rozdział ten składa się z pięciu podrozdziałów, które Autorka poświęciła kolejno chorobie Parkinsona, ze szczególnym zwróceniem uwagi na patomechanizmy jej rozwoju, charakterystyce właściwości farmakologicznych oraz związków czynnych występujących w owocach granatu i owocach żurawiny, omówieniu biodostępności związków polifenolowych oraz charakterystyce modelu rotenonowego choroby Parkinsona i systemu obrony antyoksydacyjnej komórek. Wstęp został przygotowany w oparciu o aktualne piśmiennictwo światowe, w sposób bardzo dobrze

uzasadniający celowość podjętych badań oraz ułatwiający zrozumienie dyskusji i interpretacji wyników przeprowadzonych badań.

Celowość podjętych badań jest w pełni uzasadniona, jednak określony w pracy cel badań powinien być precyzyjniej sformułowany. W rozdziale „Cel pracy” (strona 23) czytamy, iż *„Celem badań było wykazanie potencjału neuroprotekcijnego dwóch soków o dużej zawartości polifenoli, soku z owoców granatu (...) oraz soku z żurawiny (...)”*. Użycie w określeniu celu badań sformułowania *„wykazanie potencjału neuroprotekcijnego”* wskazuje, iż cel badania mógł zostać zrealizowany jedynie w przypadku wykazania takiego działania, czego nie dało się przecież przewidzieć na etapie planowania badań, a co stanowiło hipotezę badawczą. Właściwszym byłoby napisanie w celu pracy, iż celem badań była ocena (ewentualnie zbadanie) potencjału neuroprotekcijnego, tak jak to określono w tytule rozprawy doktorskiej i streszczeniu. Ponadto należało doprecyzować, iż chodzi o potencjał neuroprotekcyny w odniesieniu do choroby Parkinsona. Należy jednak podkreślić, iż, pomimo nieco nieprecyzyjnego sformułowania, cel badań jest jasny i zrozumiały po przeczytaniu dwóch pierwszych rozdziałów dysertacji („Wstęp” i „Cel pracy”).

Biorąc pod uwagę charakter choroby Parkinsona i główne mechanizmy etiopatogenetyczne tego schorzenia, należy stwierdzić, iż badania zaplanowano właściwie do oceny potencjalnego działania ochronnego soków z owoców granatu i żurawiny w odniesieniu do rozwoju tej choroby. Cele szczegółowe badań obejmowały ocenę, czy wielokrotne podawanie tych soków chroni przed uszkodzeniem struktur mózgu w rotenonowym modelu choroby Parkinsona i związanymi z tym zaburzeniami motorycznymi oraz stwierdzenie, który z mechanizmów – modulacja systemu obrony antyoksydacyjnej, procesu zapalnego czy procesu apoptozy, jest zaangażowany w potencjalne działanie neuroprotekcyjne poszczególnych soków.

W rozdziale pracy zatytułowanym „Część doświadczalna” mgr farm. M. Kurpik omówiła zastosowany model doświadczalny. Eksperyment został przeprowadzony na samcach szczura stada niekrewniaczego Wistar i trwał 45 dni. Przez pierwsze 10 dni doświadczenia zwierzętom z odpowiednich grup podawano sok z owoców granatu lub żurawiny, bądź wodę za pomocą sondy dożołądkowej, a przez kolejne 35 dni – rotenon rozpuszczony w rafinowanym oleju słonecznikowym (1,3 mg/kg m.c./dzień, podskórnie) lub/i sok z owoców granatu lub żurawiny (w dawce 200 i 500 mg/kg m.c./dzień). Zwierzętom stanowiącym grupę kontrolną przez pierwszych 10 dni podawano dożołądkowo wodę, a począwszy od 11 dnia do końca eksperymentu – olej słonecznikowy. Badania obejmowały ocenę przyrostu masy ciała i stabilności postawy

oraz obrazu mikroskopowego śródmózgowia i kory mózgowej. W śródmózgowiu i korze mózgowej oznaczono aktywność mitochondrialnej dehydrogenazy aldehydowej (ALDH2), stężenie dialdehydu malonowego (MDA) jako wskaźnika peroksydacji lipidów, stężenie glutationu zredukowanego (GSH) oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych takich jak katalaza (CAT), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), peroksydaza glutationowa (GPx), reduktaza glutationowa (GR) i S-transferaza glutationowa (GST). Ponadto w obu strukturach mózgu oceniono ekspresję białka proapoptycznego (Bax) i białka antyapoptycznego (Bcl-xl), stężenie czynnika martwicy nowotworu-alfa (TNF- $\alpha$ ), tlenku azotu (NO) i białka całkowitego. Zakres badań i zastosowane metody zostały prawidłowo dobrane do realizacji sformułowanych celów szczegółowych pracy. Szeroki zakres badań i różnorodność stosowanych technik analitycznych świadczą o dobrym przygotowaniu mgr farm. M. Kurpik do pracy naukowo - badawczej i Jej wysokich umiejętnościach analitycznych, a zarazem wskazują na duży nakład pracy, który był wymagany do zrealizowania zaplanowanych badań i opracowania ich wyników. W dysertacji zabrakło jednak podania informacji potwierdzających wiarygodność wyników oznaczeń poszczególnych parametrów.

Korzystne dla pracy byłoby precyzyjniejsze przedstawienie zastosowanego modelu doświadczalnego z uzasadnieniem wyboru dawek obu soków i podaniem danych dotyczących obecności i zawartości ilościowej w sokach co najmniej głównych składników aktywnych (np. na podstawie specyfikacji producenta) oraz podanie nazewnictwa łacińskiego gatunków roślin, z których były pozyskane owoce na soki. W pierwszym zdaniu podrozdziału 3.4. zatytułowanego „Układ doświadczenia” czytamy, iż „*Szczury podzielono losowo na 5 grup, po 10 sztuk w grupie*”, co wskazuje iż w badaniu wykorzystano 50 osobników, natomiast z opisu modelu doświadczalnego wynika, iż w badaniu wykorzystano znacznie więcej zwierząt. Najprawdopodobniej było to 80 osobników, na co uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej do spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu. Różne wartości tych samych parametrów u zwierząt z grupy kontrolnej oraz grupy, której podawano jedynie rotenon przedstawione w tabelach prezentujących wyniki oceny wpływu podawania soku z owoców granatu (Tabele 1 - 21) i soku z owoców żurawiny (Tabele 22 - 44) wskazują na zastosowanie odrębnych grup kontrolnych i otrzymujących sam rotenon w częściach eksperymentów oceniających wpływ poszczególnych soków. Niejasnym jest jednak, ile zwierząt wykorzystano w badaniu i dla ilu osobników w poszczególnych grupach podane są wyniki badań przedstawione w tabelach i na rycinach.

Wyniki badań mgr M. Kurpik przedstawiła w sposób zwięzły i bardzo jasny, co zasługuje na podkreślenie ze względu na złożony model badawczy i wiele ocenianych parametrów. Zastosowana przez Autorkę forma prezentacji wyników polegająca na podziale rozdziału „Wyniki” na dwa główne podrozdziały zawierające kolejno wyniki oceny wpływu podawania soku z owoców granatu i soku z owoców żurawiny z poświęceniem każdemu parametrowi badanemu oddzielnej strony, na której wyniki zostały przedstawione w formie tabeli i na rycinie, zostało dobrze przemyślane. Wyniki w tabelach są przedstawione w sposób bardzo czytelny z podaniem szczegółowych wyników analizy statystycznej, a podanie zmian procentowych w grupach zwierząt, którym podawano jedynie rotenon lub sok względem grupy kontrolnej oraz względem grupy kontrolnej i otrzymującej sam rotenon w przypadku grup, którym podawano jednocześnie rotenon i sok znacznie ułatwia analizę i interpretację wyników badań. Ponadto na tej samej stronie rozprawy, pod każdą tabelą, znajduje się rycina obrazująca, w sposób bardzo przejrzysty, wyniki oceny danego parametru wraz z wynikami analizy statystycznej. Autorka nie zamieściła wprawdzie legend wyjaśniających oznaczenia stosowane na rycinach, są one jednak takie same, jak w tabelach znajdujących się nad rycinami, w związku z czym ryciny są łatwe do analizy. Każda tabela i rycina poprzedzone są krótkim opisem podsumowującym wpływ podawania rotenonu i efekt zastosowania soku u zwierząt, którym podawano rotenon.

W opisie oraz prezentacji wyników badań w tabelach i na rycinach znajdują się jednak pewne nieścisłości. Dla przykładu, w podrozdziale 4.1.1. Masa ciała (strona 35), Autorka napisała, iż *„W 5 tygodniu nastąpiło 105% a w 6 i 7 tygodniu 3-krotne obniżenie przyrostu masy ciała u zwierząt zatrutowanych rotenonem w porównaniu z wartościami notowanymi w grupie kontrolnej. Jednoczesne podawanie soku osłabiło ten efekt o 57% w ostatnim tygodniu.”* Z danych przedstawionych w Tabeli 1 i na Rycinie 1 wynika natomiast, iż u zwierząt, którym podawano sam rotenon doszło do obniżenia masy ciała, a nie jedynie obniżenia jej przyrostu w porównaniu do grupy kontrolnej. Podobna nieścisłość znajduje się w podrozdziale 4.2.1 (strona 58), a w konsekwencji również w dyskusji. W Tabeli 3 (strona 38) podano, iż aktywność mitochondrialnej dehydrogenazy aldehydowej u zwierząt, które otrzymywały rotenon i sok z owoców granatu w dawce 200 mg/kg m.c./dzień była wyższa o 70% w porównaniu do grupy kontrolnej, podczas gdy wartości średnie tego parametru w obu grupach wskazują, iż zmiana wynosiła 50%. Z kolei w Tabeli 4 (strona 39) podano, iż stężenie dialdehydu malonowego u zwierząt otrzymujących rotenon i sok z owoców granatu w niższej z badanych dawek było niższe o 66% w porównaniu do grupy, której podawano jedynie rotenon, natomiast z danych przedstawionych w tej tabeli wynika, iż zmiana ta wynosiła 74%. Ponadto w przypadku

znaczących zmian parametrów, gdy różnice pomiędzy grupami przekraczały 100%, właściwszym byłoby podanie krotności zmian.

Opis przedstawiony w podrozdziale 3.5.16. Analiza statystyczna oraz dane podane w tabelach łącznie z objaśnieniami podanymi pod poszczególnymi tabelami wskazują, iż wyniki badań zostały opracowane z wykorzystaniem właściwych metod statystycznych. Wymieniając wśród zastosowanych testów statystycznych „*wielokrotny testu post hoc Fisher LSD*” Autorka z pewnością miała na myśli test porównań wielokrotnych. W opisie i dyskusji wyników znajdują się jednak niewłaściwe ze statystycznego punktu widzenia sformułowania typu „*Lekkie obniżenie stężenia (...) nie wykazało znamienności statystycznej.*” (strona 40), „*lekko (nieznamienne statystycznie) wzrosło*” (strona 47) oraz „*Lekkie obniżenie poziomu (...) oraz wzrost (...) nie wykazały znamienności statystycznej*” (strona 57) i „*nieznamienne statystycznie wzrost aktywność*” (strona 84). Ponadto w Tabeli 8 podano, iż aktywność peroksydazy glutationowej w śródmózgowiu u zwierząt, którym podawano rotenon i sok z owoców granatu w dawce 200 mg/kg m.c./dzień była wyższa o 60% w porównaniu do grupy kontrolnej i 70% względem grupy, która otrzymywała jedynie rotenon, podczas gdy zarówno w Tabeli 8, jak i na Rycinie 8 nie wskazano występowania różnic znamiennych statystycznie pomiędzy tymi grupami, a zatem nie było podstawy do obliczania zmian procentowych. W opisie wyników na stronie 45 Autorka napisała „*Zanotowano również 35% wzrost aktywności GST po podaniu samego soku*”, natomiast z Tabeli 10 i Ryciny 10 wynika, iż w tej grupie doświadczalnej nie było różnicy w aktywności tego enzymu w porównaniu do grupy kontrolnej. Pomimo dużej staranności w przygotowaniu pracy, Autorce nie udało się uniknąć również drobnych nieścisłości w podaniu poziomów znamienności statystycznej różnic pomiędzy grupami w niektórych tabelach i odpowiadającym im rycinach (Tabela 4 i Rycina 4; Tabela 26 i Rycina 26; Tabela 42 i Rycina 42), a pod Tabelą 6 i 25 znajdują się wyjaśnienia symboli, które nie zostały zastosowane w tych tabelach.

Wyniki badań własnych mgr farm. M. Kurpik przedyskutowała w podzielonym na dwie części rozdziale „Dyskusja”, z których jedna dotyczy omówienia wpływu soku z owoców granatu, a druga – soku z owoców żurawiny. Sposób prowadzenia przez Autorkę dyskusji wyników badań świadczy o znajomości piśmiennictwa światowego w zakresie podjętej tematyki. Opis i interpretacja niektórych wyników powinny być jednak przedstawione w sposób lepiej określający wpływ podawania soku zwierzętom, które otrzymywały rotenon. Dla przykładu, w pracy czytamy, iż „*Obie dawki soku zmniejszyły poziom MDA w mózgu o ok. 50%–80%, zrównując go z wartościami kontrolnymi (...)*”

(strona 88), „W eksperymencie wykazano zakłócenia stabilności postawy, które zostały znacznie zmniejszone po podaniu soku z granatu” (strona 81), „Obie dawki soku wpłynęły na obniżenie peroksydacji lipidów, wywołanej działaniem rotenonu, zmniejszając stężenie MDA o 60% w śródmózgowiu oraz o 70% w korze mózgowej.” (strona 104) oraz „Poziom białka proapoptotycznego Bax wzrósł pod wpływem rotenonu i został obniżony u szczurów otrzymujących jednocześnie większą dawkę soku, przez co utrzymana została ekspresja tego białka na poziomie kontrolnym.” (strona 104). Należało natomiast dokonywać interpretacji wyników w sposób jednoznacznie oceniający, czy podanie soku zapobiegało niekorzystnemu wpływowi rotenonu (ze zwróceniem uwagi, czy jedynie osłabiało efekt jego działania, czy też zapobiegało wystąpieniu tego efektu), ewentualnie nasilało ten efekt. Omawiając wyniki badań w rozdziale „Dyskusja”, Autorka stwierdziła, iż aktywność mitochondrialnej dehydrogenazy aldehydowej w śródmózgowiu szczurów otrzymujących rotenon i sok z granatu w obu zastosowanych dawkach wzrosła ponad 2-krotnie, natomiast wyniki przedstawione w Tabeli 3 wskazują, iż wzrost ten był ponad 3-krotny. Podsumowując wyniki badań własnych, w ostatnim akapicie „Dyskusji” Autorka podkreśliła, iż fakt, że aktywność niektórych enzymów antyoksydacyjnych uległa zmianie wyłącznie u zwierząt otrzymujących łącznie sok i rotenon może sugerować wystąpienie interakcji pomiędzy rotenonem a składnikami soku na poziomie modulacji aktywności albo ekspresji enzymów. Kwestia ta mogłaby zostać nieco szerzej rozwinięta.

Analizując wyniki badań przedstawionych w pracy można zauważyć, iż w przypadku niektórych parametrów brak było zgodności we wpływie rotenonu w częściach eksperymentu, w których oceniano wpływ poszczególnych soków, do czego Autorka nie odniosła się w dyskusji. Dla przykładu, z Tabeli 7 wynika, iż aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w śródmózgowiu nie uległa zmianie po podaniu rotenonu, natomiast dane podane w Tabeli 29 wskazują na wzrost aktywności tego enzymu o 43% w porównaniu do grupy kontrolnej. Podobnie, Tabela 10 wskazuje na brak zmiany aktywności S-transferazy glutationowej w tej strukturze mózgu pod wpływem rotenonu, a Tabela 32 – na jej wzrost o 44%.

Wyniki badań przeprowadzonych przez mgr farm. M. Kurpik mają bardzo dużą wartość poznawczą i istotny aspekt praktyczny. Wnoszą nowe dane w zakresie poszukiwania potencjalnych czynników, które mogą być skuteczne w profilaktyce choroby Parkinsona, co należało bardzo wyraźnie podkreślić w dyskusji. Badania Zespołu Naukowców z Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, w zakres których wchodzi badania prezentowane w rozprawie doktorskiej przedłożonej do oceny, są pierwszymi, w których wykazano



neuroprotekcyny wpływ soku z owoców żurawiny, w tym jego ochronny wpływ w odniesieniu do choroby Parkinsona. Ponadto w badaniach potwierdzono korzystny wpływ soku z granatu w odniesieniu do tego schorzenia oraz zaproponowano, jaki może być mechanizm protekcyjnego działania obu soków. W ocenie recenzenta, interesującym byłoby zwrócenie uwagi w dyskusji wyników badań na inne, niż polifenole, związki, których obecność w sokach z owoców granatu i owoców żurawiny mogła mieć udział w wykazanym w prezentowanych badaniach działaniu tych soków. Ponadto aspekt praktycznego wykorzystania wyników badań byłby wzmocniony poprzez podjęcie próby ekstrapolacji wyników badań z zastosowanego modelu doświadczalnego na człowieka.

Pani mgr farm. M. Kurpik zrealizowała postawione cele szczegółowe pracy, z przeprowadzonych badań nie wyciągnęła jednak jednoznacznych wniosków, które zostałyby sformułowane w rozdziale „Wnioski”. Autorka, w rozdziale „Podsumowanie i wnioski”, dokonała jedynie podsumowania wyników w odniesieniu do efektów wpływu każdego z soków.

Opracowanie redakcyjne pracy cechuje duża staranność. Praca jest napisana poprawnym językiem, niektóre sformułowania odbiegają jednak od stylu właściwego pracom naukowym np. *„Nie obserwowano wzrostu stężenia MDA w korze mózgowej szczurów zatrutowanych rotenonem, co jest zgodne z danymi przedstawionymi w omówieniu eksperymentu z granatem”* (strona 88), *„hamowanie enzymów antyoksydacyjnych”* (strona 14), *„peroksydację lipidów oznaczono kolorymetrycznie”* (strona 27), czy *„powstały stres oksydacyjny”* (strona 82). Ponadto, według obecnej nomenklatury chemicznej nie używa się nazwy azotyny, tylko azotany(III).

Rozprawa została przygotowana starannie pod względem edytorskim. Należy podkreślić, iż w pracy są jedynie pojedyncze błędy literowe, co świadczy o bardzo dużej dbałości o stronę edytorską dysertacji. Autorka nie zachowała jednak konsekwencji w stosowaniu wprowadzonych skrótów. Ponadto niektóre skróty nie zostały wyjaśnione w miejscu ich pierwszego użycia, a wiele skrótów zostało wyjaśnione wielokrotnie. Praca została przygotowana w oparciu o aktualne, niemal wyłącznie, anglojęzyczne piśmiennictwo obejmujące 124 pozycje literaturowe, w tym 22 prace opublikowane w ostatnich 3 latach (2019 - 2021). W niektórych miejscach brak jest odnośników literaturowych na potwierdzenie poruszanych kwestii, nie mniej jednak znajdujemy je w pracy. Przykładem mogą być zdania *„W wielu badaniach dotyczących etiopatogenezy choroby Parkinsona, możliwej prewencji oraz metod terapeutycznych wykorzystano model zwierzęcy z użyciem rotenonu (ROT) jako neurotoksyny.”* (strona 18) i *„Wiele doniesień naukowych wskazuje na prawdopodobieństwo spadku ryzyka wystąpienia*

*schorzeń układu sercowo-naczyniowego pod wpływem związków polifenolowych zawartych w żurawinie.” (strona 16).*

Podsumowując ocenę pracy doktorskiej mgr farm. Moniki Kurpik stwierdzam, iż rozprawa prezentuje oryginalne rozwiązanie ważnego problemu naukowego i wnosi istotne elementy nowości do wiedzy z zakresu neuroprotekcynnego działania soków z owoców granatu i owoców żurawiny oraz możliwości potencjalnego wykorzystania substancji pochodzenia naturalnego w profilaktyce choroby Parkinsona. Należy również podkreślić, iż przeprowadzenie tak szerokich badań oraz opracowanie statystyczne i graficzne ich wyników wraz z całościowym opracowaniem w postaci przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej wymagało nie tylko wielu umiejętności, ale było również pracochłonne i świadczy o bardzo dużym zaangażowaniu nie tylko Kandydatki do stopnia doktora nauk, ale również Promotora i Promotora Pomocniczego. Uwagi przedstawione w recenzji nie umniejszają wartości merytorycznej pracy i jej istotnego aspektu praktycznego. Uwagi odnoszą się głównie do sposobu prezentacji i interpretacji wyników badań, a zatem są to kwestie, które można łatwo poprawić lub uzupełnić podczas przygotowywania prezentacji tej pracy na obronę rozprawy doktorskiej oraz przygotowywania wyników do publikacji w czasopismach naukowych.

Stwierdzam, iż praca Pani mgr farm. Moniki Kurpik na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne spełnia wymagania ustawowe (Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce) stawiane rozprawom doktorskim i zwracam się do Kapituły Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie mgr farm. Moniki Kurpik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK  
Zakładu Toksykologii



prof. dr hab. Małgorzata M. Brzóska