

UNIwersYTET GDAŃSKI



Prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn
Katedra Biologii Molekularnej
Wydział Biologii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk

Tel. (58) 523 6024 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 6025 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 5501 (Kierownik Katedry)
e-mail: joanna.bart@ug.edu.pl (Sekretariat)
e-mail: grzegorz.wegrzyn@ug.edu.pl (Kierownik Katedry)
www.biology.ug.edu.pl/kbm

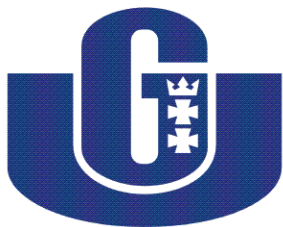
Gdańsk, 10 lipca 2020 r.

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy

pt. „Rola wybranych inhibitorów enkefalinaz w biologii nowotworu jelita grubego. Projektowanie i synteza związków o charakterze przeciwnowotworowym w oparciu o strukturę sialorfiny”

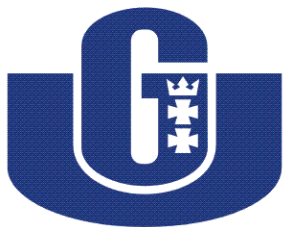
Praca doktorska Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy pt. „Rola wybranych inhibitorów enkefalinaz w biologii nowotworu jelita grubego. Projektowanie i synteza związków o charakterze przeciwnowotworowym w oparciu o strukturę sialorfiny” została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Jest to praca interdyscyplinarna, zawierająca część chemiczną i część biologiczną. Prace tego typu są z jednej strony niezwykle cenne, gdyż pozwalają na szerokie ujęcie badanego zagadnienia, ale z drugiej strony są też bardzo trudne, gdyż wymagają od autora opanowania jednocześnie metodyk badań specyficznych dla obu reprezentowanych dyscyplin naukowych. W interdyscyplinarnych pracach doktorskich kluczowa jest też rola promotora, który musi także być biegłym w dwóch dyscyplinach naukowych. W przypadku ocenianej rozprawy doktorskiej promotorem jest Pan prof. dr hab. Piotr Skowron, który z jednej strony pracuje od lat na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, a z drugiej strony jest profesorem nauk biologicznych. Mógł on zatem we właściwy sposób sprawować opiekę merytoryczną nad Doktorantką.



Rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy ma formę tradycyjnego manuskryptu, liczącego 229 stron. W związku z interdyscyplinarnością opisanych w pracy badań, wyniki doświadczeń podzielne zostały na część chemiczną i biologiczną, co uważam za w pełni uzasadnione. Nietypowy jest natomiast układ części rozprawy dotyczących opisu materiałów i metod oraz uzyskanych wyników, ale do tego powrócę w dalszej części recenzji, poświęconej ocenie strony redakcyjnej.

Jako cel pracy Doktorantka wyznaczyła sobie syntezę sialorfiny i opiorfiny oraz zaprojektowanie i syntezę różnych analogów tych związków a także określenie ich wybranych właściwości biologicznych. Wśród badanych analogów sialorfiny wyszczególnić należy pochodne zawierające reszty alaniny w różnych pozycjach łańcucha peptydowego (tzw. „skan alaninowy”) oraz modyfikacje końca C poprzez wprowadzenie grup amidowych. Badane właściwości biologiczne obejmowały przede wszystkim określenie aktywności anty-grzybiczej i anty-bakteryjnej, zbadanie zdolności do wywoływania hemolizy, a także dokładne zbadanie wpływu uzyskanych związków na przeżywalność i proliferację ludzkich fibroblastów oraz komórek pochodzących z nowotworów jelita grubego. Dziwny jest jedynie całkowity brak wymienienia badań biologicznych w przedstawionych (na str. 9) zadaniach szczegółowych.

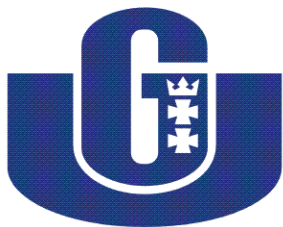
We „Wstępie” Pani mgr Joanna Kreczko-Kurzawa opisała aktualny stan wiedzy o opioidach, zarówno naturalnych jak i syntetycznych, a także przedstawiła charakterystykę enzymów rozkładających enkefaliny oraz inhibitorów enkefalinaz. Tak skonstruowany i obszerny (liczący 97 stron) wstęp teoretyczny z jednej strony świadczy o bardzo dobrym opanowaniu przez Doktorantkę wiedzy z zakresu tematyki Jej rozprawy, a z drugiej stanowi bardzo dobre wprowadzenie do lektury dalszych rozdziałów tej pracy.



Rozdział „Materiały i Metody” jest nietypowy, gdyż Autorka przedstawiła w nim szczegółowe opisy stosowanych w pracy metod chemicznych oraz materiały w nich użyte, natomiast nie opisała w ogóle metod i materiałów do części biologicznej pracy. Metody biologiczne opisane są w części prezentującej wyniki doświadczeń z wykorzystaniem różnych linii komórkowych, z tym że metody te opisane są niezbyt dokładnie. Nie jest dla mnie jasne jaki był cel takiego zróżnicowanego sposobu przedstawienia obu grup metod.

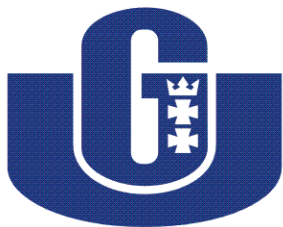
W opisie wyników części chemicznej pracy, Pani mgr Joanna Kreczko-Kurzawa przedstawiła rezultaty swoich prac, które doprowadziły do zaprojektowania i wykonania syntezy sialorfiny i opiorfiny oraz analogów tych peptydów. Nie mam uwag krytycznych do tej części pracy, a zaprezentowane wyniki świadczą o uzyskaniu prawidłowo zsyntetyzowanych związków o dużej czystości (powyżej 95%, na podstawie analizy HPLC).

Część biologiczna pracy rozpoczyna się od przedstawienia wyników badań mikrobiologicznych, w których testowano wpływ uzyskanych związków (pochodnych sialorfiny) na wzrost szczepów różnych gatunków grzybów i bakterii. Mimo, że zastosowane zostały tradycyjne metod badania właściwości anty-drobnoustrojowych (określanie wartości MIC), to niedosyt wzbudza brak dokładnego opisu stosowanych w badaniach szczepów bakterii i grzybów, precyzyjnego składu używanych pożywek i podłoży, a także szczegółów eksperymentalnych. Niemniej jednak uzyskane przez Doktorantkę wyniki jednoznacznie wskazują na brak właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych testowanych związków. Uzyskane wartości $MIC > 256 \mu\text{g/ml}$ świadczą bowiem o wzroście hodowli badanych drobnoustrojów nawet przy stosunkowo wysokich stężeniach tych substancji.



Kolejnym doświadczeniem biologicznym było sprawdzenie czy analizowane związki powodują hemolizę erytrocytów. Zamieszczone w pracy wyniki sugerują brak ich aktywności hemolitycznej. Co prawda ponownie nie opisano szczegółów eksperymentalnych, np. jak długi był czas inkubacji komórek z badanymi związkami ani ile razy doświadczenia były powtarzane, ale zaprezentowane wartości nie pozostawiają wątpliwości, że substancje te nie powodują hemolizy. Niemniej jednak należy zauważyć, że w legendzie do Wykresu 1 nie ma informacji co przedstawiają słupki błędów (odchylenie standardowe, błąd standardowy czy inny parametr). Brak jest również analizy statystycznej uzyskanych wyników. Doktorantka wyciąga wniosek o „znikomej aktywności hemolitycznej”, ale bez analizy statystycznej nie można stwierdzić czy była to „znikoma aktywność” czy po prostu takiej aktywności nie można stwierdzić. Dla przykładu, czy wartość uzyskana w doświadczeniu kontrolnym (z zastosowaniem rozpuszczalnika), wynosząca $0,949 \pm 0,45$ różni się istotnie od wartości uzyskanych w przypadku badanych związków, takich jak $1,180 \pm 0,00$ albo $1,770 \pm 0,42$? Bez dokładnej analizy statystycznej nie można odpowiedzieć na to pytanie, a takiej analizy w ocenianej rozprawie nie przedstawiono.

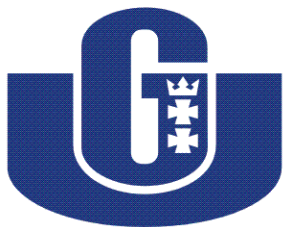
Niestety z zaprezentowanych w następnym podrozdziale wyników badań wstępnych nad wpływem testowanych związków na proliferację komórek niewiele można wywnioskować. Wykresy 2-12, obrazujące uzyskane rezultaty, w ogóle nie zawierają ani analizy statystycznej ani nawet słupków błędów czy informacji ile razy doświadczenia były powtórzone. Należy pamiętać, że w doświadczeniach biologicznych z użyciem hodowli komórkowych różnice w jakimkolwiek badanym parametrze rzędu 20-30% są bardzo częste nawet pomiędzy dwoma tak samo przeprowadzonymi doświadczeniami z tą samą linią komórkową.



Nie można zatem stwierdzić czy różnice pomiędzy poszczególnymi wartościami, widoczne na Wykresach 2-12, obrazujące efekty działania poszczególnych związków w różnych stężeniach, są faktycznie różnicami istotnymi, czy też wynikają z naturalnej zmienności biologicznej oraz przypadkowych fluktuacji występujących w populacjach komórek. Do stwierdzenia tego konieczna byłaby szczegółowa analiza statystyczna, której w pracy brak.

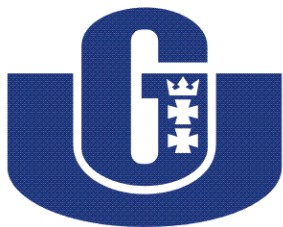
Wyniki przedstawione w kolejnym rozdziale pracy (rozdział 6.4.1), dotyczące badań nad żywotnością komórek linii nowotworowych w obecności różnych stężeń testowanych substancji, są już znacznie lepiej przedstawione. Przede wszystkim, w Tabeli 16 zawarta jest analiza statystyczna uzyskanych wyników. Niestety nie ma informacji jaki test statystyczny został użyty. Szkoda także, że wyniki analiz statystycznych przedstawione są tylko w Tabeli 16, a nie ma ich na Wykresach 13-24, obrazujących dokładniej rezultaty pochodzące z tych samych doświadczeń.

Muszę także zwrócić uwagę na nieprawidłową interpretację stosunkowo dużej części wyników, a przynajmniej na ich tzw. „nadinterpretację”. Posłużę się przykładem Wykresu 22, choć podobne problemy dotyczą znacznej części analiz wyników zaprezentowanych w omawianym podrozdziale rozprawy. Otóż Wykres 22 podpisany jest „Peptydy wykazujące ujemny wpływ na żywotność komórek linii LS180”. Wyniki na nim zamieszczone wskazują procent przeżywalności komórek traktowanych poszczególnymi związkami w stosunku do doświadczeń kontrolnych, ale jak wynika z danych przedstawionych w Tabeli 16, w żadnym z układów doświadczalnych zobrazowanych na Wykresie 22 nie było statystycznie istotnych różnic pomiędzy wynikami dla komórek



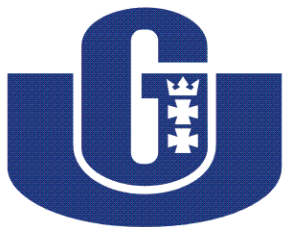
hodowanych w obecności testowanych peptydów a komórek hodowanych bez tych związków. Oznacza to, że wskazane wartości liczbowe, z wartościami odchylenia standardowego, odzwierciedlają jedynie przypadkowe różnice pomiędzy komórkami i naturalną fluktuację wewnątrz populacji komórek, a nie faktyczne różnice pomiędzy hodowlami prowadzonymi z dodatkiem peptydów i bez nich. Rezultaty zamieszczone w Tabeli 16 jednoznacznie świadczą bowiem, że badane związki w stężeniu 250 μ M nie wpływają istotnie na żywotność testowanej linii komórkowej. Taka interpretacja powinna być zastosowana w przypadku wszystkich wykresów, oczywiście z uwzględnieniem faktycznie istniejących statystycznie istotnych różnic, podanych w Tabeli 16.

W związku z powyższym uważam, że większość wniosków dotyczących tej części pracy, przedstawionych na str. 162-164, nie jest poparta rezultatami zaprezentowanych wyników. W przypadku wniosku nr 1, nieprawdą jest, że większość badanych peptydów wykazuje działanie nieznacznie zmniejszające żywotność komórek LS180. W rzeczywistości, w większości układów doświadczalnych, badane peptydy nie miały istotnego wpływu na przeżycie tych komórek, z wyjątkiem QHNPR-OH (sialorfiny) w stężeniach 0,5 i 1,0 mM oraz AHNPR-OH, QANPR-OH, QHAPR-OH i QHNAR-OH w stężeniu 1 mM (czyli najwyższym testowanym). Podobnie jest w przypadku wniosku nr 2 – o istotnych zmianach można mówić jedynie dla układów doświadczalnych wymienionych powyżej. Wnioski nr 3 i 4, dotyczące zróżnicowania pomiędzy poszczególnymi pochodnymi, nie są uprawnione, gdyż nie przeprowadzono analizy statystycznej pozwalającej na porównanie efektów działania różnych peptydów (w Tabeli 16 podane są wyniki analiz różnic jedynie pomiędzy poszczególnymi związkami a kontrolą oraz pomiędzy pochodnymi sialorfiny a



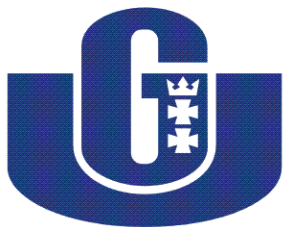
substancją wyjściową). Wniosek nr 5, mówiący że w najwyższym badanym stężeniu wszystkie analogi z serii amidowej wykazywały wpływ na żywotność komórek jest nieprawdziwy – jak wynika z Tabeli 16, żadna z pochodnych amidowych nie wykazywała istotnego wpływu na żywotność komórek linii LS180 (brak statystycznie istotnych różnic). Podobnie nieprawdziwy jest wniosek nr 6, gdyż wbrew zamieszczonemu tam stwierdzeniu, ani QHAPR-NH₂ ani AHNPR-NH₂ nie wpływały istotnie na żywotność badanych komórek. Stwierdzenia zamieszczone we wnioskach nr 7 i 8, wskazujące na większy lub mniejszy wpływ poszczególnych peptydów na przeżywalność komórek linii LS180 w hodowli, są także w większości nieprawdziwe. Analogi karboksylowe wywierają istotny wpływ na tę linię komórkową jedynie w stężeniu 1 mM, natomiast we wszystkie innych przypadkach (poza sialorfiną) brak było istotnych różnic (Tabela 16). Nie ma także podstaw do przyjęcia wniosku nr 9, że istnieje tendencja w działaniu poszczególnych związków w zależności od stężenia. Istnienie takiej tendencji nie było badane odpowiednimi testami statystycznymi, zatem nie można wysnuwać takiego wniosku bez znajomości wyników takich testów.

Kolejna część pracy poświęcona jest badaniom wpływu analizowanych peptydów na żywotność komórek linii SW620. Do tych wyników oraz wniosków przedstawionych na str. 172-173 mam identyczne zastrzeżenia jak w przypadku badań nad żywotnością komórek linii LS180 – istotny wpływ wywierały jedynie niektóre związki i w niektórych stężeniach, tak jak to Doktorantka przedstawiła w Tabeli 16. Wszelkie inne interpretacje rezultatów doświadczeń, zamieszczone w pracy, są jedynie albo błędnymi wnioskami albo czystymi spekulacjami, nie popartymi odpowiednimi analizami statystycznymi.



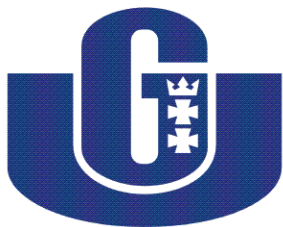
Ostatnia część doświadczalna pracy Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy poświęcona jest badaniom proliferacji komórek w obecności testowanych peptydów. Proliferacja szacowana była poprzez pomiar efektywności wcielania bromodeoksyurydyny (BrdU) do DNA, co jest standardową metodą w tego typu eksperymentach. Podobnie jak w przypadku badań żywotności komórek, wyniki testów proliferacji prawidłowo przedstawione zostały w odpowiedniej tabeli (Tabela 17 – brak jest tylko informacji o liczbie powtórzeń doświadczeń), natomiast Wykresy 36-59 nie zawierają pełnej informacji dotyczącej analiz statystycznych, zatem ich kompleksowa interpretacja nie jest możliwa. Moje uwagi do wniosków z omawianych doświadczeń, przedstawionych na str. 183-184, są takie same jak do wniosków dotyczących badań przeżywalności komórek. Mianowicie, faktyczne różnice występują jedynie w układach doświadczalnych wskazanych w Tabeli 17 (różnice statystycznie istotne) i tylko w stosunku do nich można wyciągać uprawnione wnioski.

Rozprawę kończy rozdział „Dyskusja”, który jest krótkim podsumowaniem uzyskanych wyników w świetle wcześniej opublikowanych prac naukowych. Podobnie jak w przypadku omawiania wyników badań, również ich dyskusja powinna skupić się jedynie na występujących istotnych różnicach pomiędzy efektami działania testowanych peptydów a doświadczeniami kontrolnymi. Powtórzę i podkreślę raz jeszcze, że wszelkie inne dywagacje są jedynie czystymi spekulacjami, nie popartymi rzetelnymi analizami wyników badań. Dobrze napisany jest natomiast ostatni akapit pracy, podsumowujący wyniki badań (str. 198), gdzie Pani mgr Joanna Kreczko-Kurzawa zawarła wyważone stwierdzenia obrazujące faktycznie najważniejsze osiągnięcia zaprezentowane w ocenianej rozprawie doktorskiej.



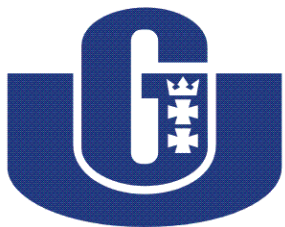
Muszę przyznać, że brak przedstawienia analiz statystycznych uzyskanych wyników na przedstawionych w pracy wykresach oraz próby ich interpretacji bez brania pod uwagę takich analiz zamieszczonych w Tabelach 16 i 17 były dla mnie zaskoczeniem. Tym bardziej, że część wyników zamieszczonych w rozprawie doktorskiej Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy została opublikowana a artykule, który ukazał się w *Chemico-Biological Interactions* 2019; 307: 105-115. W publikacji tej opisane są analizy statystyczne, z podaniem wykorzystanych testów, a interpretacja wyników uwzględnia istotne statystycznie różnice pomiędzy poszczególnymi oznaczonymi wartościami badanych parametrów. Sugeruje to, że Doktorantka przeprowadziła odpowiednie analizy i potrafiła prawidłowo zinterpretować rezultaty badań, co pozwoliło na ich opublikowanie w międzynarodowym czasopiśmie naukowym. Wskazuje to na posiadanie przez Panią mgr Joannę Kreczko-Kurzawę odpowiednich umiejętności w zakresie prawidłowego wyciągania wniosków z przeprowadzonych badań, natomiast z nieznanymi mi przyczyn analizy statystyczne zostały w dużej mierze pominięte w przedstawionej rozprawie doktorskiej a interpretacja rezultatów zawiera wiele bardzo swobodnych i nie popartych faktami stwierdzeń, a nawet pewną dozę fantazji.

Na koniec oceny merytorycznej rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy wartym podkreślenia jest fakt cytowania przez Autorkę ponad 500 pozycji literaturowych. Obrazuje to z jednej strony istotność podjętego problemu badawczego i zainteresowanie tą tematyką naukowców na Świecie, a z drugiej strony pokazuje szeroką wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie prowadzonych przez Nią badań.



Oceniając stronę redakcyjną rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy chciałbym na początku zwrócić uwagę na nietypowy układ tej pracy. Jak wspomniałem wcześniej, w rozdziale „Materiały i Metody” opisane są jedynie procedury doświadczeń chemicznych, natomiast opis eksperymentów biologicznych znajduje się w części przedstawiającej ich wyniki. Moim zdaniem utrudnia to czytanie pracy, a przy okazji umknęło Autorce podanie niektórych ważnych informacji, jak na przykład odnośników literaturowych do używanych linii komórkowych, składu podłoża i pożywek używanych w hodowlach czy niektórych szczegółów doświadczalnych jak na przykład czas inkubacji (w przypadku opisu niektórych eksperymentów) czy liczba wykonanych powtórzeń. Podczas publicznej obrony pracy doktorskiej chętnie usłyszałbym dlaczego Doktorantka zdecydowała się na taki właśnie nietypowo odmienny opis metodyki doświadczeń chemicznych i biologicznych.

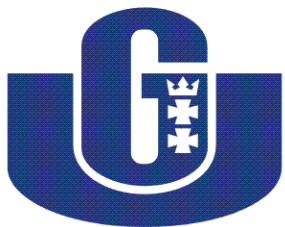
Praca napisana jest ogólnie poprawnym językiem naukowym. Oprócz drobnych błędów literowych (nieistotnych dla samej treści rozprawy), chciałbym zwrócić uwagę na kilkukrotne użycie jednego niepoprawnego sformułowania: „i/lub” (str. 10, 49, 95, 126). W języku polskim określenie to nie ma logicznego sensu. Koniunkcja „i” oznacza bowiem konieczność spełnienia obu z podanych w zdaniu warunków, zaś alternatywa nierozłączna „lub” oznacza że może być spełniony jeden warunek bądź oba. Zatem określenie „i/lub” nie ma sensu, gdyż „i” zawiera się już w „lub”. Można by co prawda użyć określenia „i/albo”, czyli połączenia koniunkcji i alternatywy rozłącznej (tzn. spełnienia tylko i wyłącznie jednego z dwóch warunków), ale nie ma takiej potrzeby, gdyż „i/albo” oznacza dokładnie to samo co „lub” (należy podkreślić, że wbrew niektórym potocznym mniemaniom, słowa „lub” oraz „albo” nie są synonimami, ale oznaczają odpowiednio alternatywę nierozłączną i rozłączną).



Można posłużyć się przykładem (odnoszącym się do treści tej rozprawy doktorskiej – str. 16), że określenie „i/lub” ma logicznie taką samą wartość jak określenie „morfina/leki opioidowe”. „Morfina” zawiera się w grupie „leków opioidowych”, podobnie jak „i” zawiera się w „lub”, a zatem pisanie obu słów przedzielonych ukośnikiem nie ma logicznego sensu. Prawdopodobnie określenie „i/lub” (niestety obecnie często pojawiające się nie tylko w potocznych tekstach, ale także w poważnych opracowaniach – nad czym należy ubolewać) wzięło się bezpośrednio z prostego tłumaczenia z języka angielskiego zwrotu „and/or”. Niemniej jednak, w języku angielskim nie ma odpowiednika słowa „lub”. Słowo „and” jest odpowiednikiem „i”, zaś słowo „or” jest odpowiednikiem „albo”. Zatem aby po angielsku powiedzieć „lub” trzeba użyć określenia „and/or”, natomiast nie ma takiej konieczności w języku polskim, gdyż istnieje słowo „lub” będące pod względem logicznym synonimem „i/albo”.

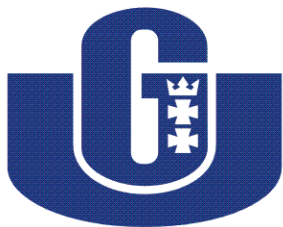
W tekście całej pracy pozycje literaturowe cytowane są w niestandardowy sposób. Jeśli przyjęto sposób cytowania podający nazwiska autorów i rok wydania danej publikacji, to w przypadku dwóch autorów przyjmuje się powszechnie podawanie obu nazwisk, a w przypadku większej liczby autorów – nazwiska pierwszego autora oraz dodatkowo „i wsp.” (*et al.*). W rozprawie doktorskiej Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy wszystkie cytowania zawierają tylko jedno nazwisko, niezależnie od tego ilu było autorów danej pracy.

Na str. 40 podana jest nazwa łacińska gatunku bydła domowego „*Bos Taurus*”. Błędna jest jego pisownia – nazwa rodzajowa powinna być pisana z dużej litery zaś gatunkowa z małej, zatem poprawna pisownia to „*Bos taurus*”. Ponadto nazwa łacińska powinna być podana bezpośrednio po nazwie polskiej, nie zaś po określeniu, że chodzi o rdzeń kręgowy zwierzęcia (dla niezorientowanego czytelnika mogłaby ona sugerować nazwę łacińską narządu).

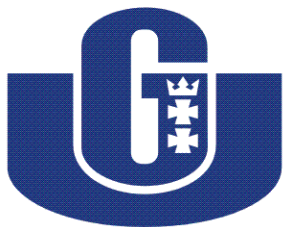


W dużym fragmencie rozprawy występują problemy z numeracją rysunków. Na przykład w tekście cytowane są rysunki, które nie pojawiają się w rozprawie w ogóle, np. Rysunek 8 (cytowany na str. 64), Rysunek 9 (str. 66) albo pojawiają się w zupełnie innym miejscu niż są cytowane i dotyczą innych aspektów niż omawiane w miejscu cytowania, np. Rysunek 10 (cytowany na str. 95, pojawia się na str. 117), Rysunek 11 (cytowany na str. 98, pojawia się na str. 118). Ponadto niektóre rysunki pojawiają się dwukrotnie, ale pod tym samym numerem rysunku przedstawione są inne ryciny – np. Rysunek 4 na str. 43 i 65, Rysunek 5 na str. 46 i 66, Rysunek 12 na str. 102 i 118. Umieszczenie rysunków w pracy powinno być w kolejności numerycznej, co w tej rozprawie jest zakłócone – np. po Rysunku 7 pojawia się Rysunek 12 (str. 102), potem Rysunek 13 (str. 106), ale za nim bezpośrednio Rysunek 84 (str. 106), zresztą Rysunek 84 nie jest cytowany w tekście pracy. Dodatkowe zamieszczenie wprowadza oddzielne numerowanie rysunków (Rysunek 1, 2, 3 itd.), schematów (Schemat 1, 2, itd.) oraz wykresów (Wykres 1, 2, 3, itd.). Jest to mylące dla czytelnika. Lepiej byłoby wszystkie obrazowania graficzne nazwać rycinami i numerować je w kolejności cytowania w tekście (jako Rycina 1, 2, 3, itd.) w obrębie całej pracy.

Wreszcie niespójna jest numeracja rozdziałów pracy. Po rozdziale 4.3 (w ramach rozdziału 4: „Materiały i Metody”) pojawia się rozdział 5.1.1 (przedstawiający wyniki syntezy peptydów), bez wcześniejszego zaanonsowania w tekście, że Autorka przechodzi do opisu wyników (jak rozumiem, intencją było aby rozdział „Wyniki” miał numer 5). Co dziwniejsze, według spisu treści rozdział 5 powinien zawierać opisy wyników badań biologicznych i zaczynać się na str. 140, a nie 114. Zresztą począwszy od rozdziału 4.3, spis treści w niewielkim stopniu pokrywa się z zawartością i numeracją rozdziałów w pracy.



W podsumowaniu oceny merytorycznej pracy uważam, że Doktorantka wykazała się głęboką wiedzą teoretyczną w zakresie tematyki prowadzonych przez Nią badań. Część chemiczna wykonanych badań nie pozostawia wątpliwości, że Pani mgr Joanna Kreczko-Kurzawa posługuje się bardzo sprawnie metodami syntezy i modyfikacji peptydów. Uzyskane związki charakteryzowały się wysoką czystością i nadawały się w pełni do przeprowadzenia badań biologicznych. Doświadczenia biologiczne przyniosły wiele cennych naukowo wyników dotyczących aktywności sialorfiny i jej pochodnych w stosunku do komórek bakterii i grzybów oraz ludzkich komórek nowotworowych. Wprawdzie mam wiele zastrzeżeń do sposobu interpretacji uzyskanych wyników i wyciągniętych wniosków, ale nie zmienia to faktu, że same doświadczenia zostały przeprowadzone poprawnie a otrzymane rezultaty stanowią cenny materiał naukowy. Co jest kluczowe dla oceny merytorycznej tej rozprawy, moje główne zastrzeżenia dotyczą bądź braku analiz statystycznych bądź nie brania pod uwagę większości wyników tych analiz przy wyciąganiu wniosków. Natomiast w publikacji zawierającej dużą część zamieszczonych w rozprawie wyników doświadczeń biologicznych, której Pani mgr Joanna Kreczko-Kurzawa jest współautorką, a która ukazała się w międzynarodowym czasopiśmie naukowym (*Chemico-Biological Interactions* 2019; 307: 105-115), przedstawione są zarówno wyniki analiz statystycznych, wraz ze wskazaniem używanych testów, jak też prawidłowe interpretacje danych. Uznaję zatem, że Doktorantka posiadała umiejętności poprawnej analizy danych i wyciągania uprawnionych wniosków, popartych faktycznymi rezultatami eksperymentów. Z niewiadomych mi przyczyn – które być może Doktorantka mogłaby wyjaśnić podczas publicznej obrony pracy doktorskiej – w ocenianej rozprawie zabrakło odpowiednio krytycznej analizy wyników.



Podsumowując stronę redakcyjną pracy, chciałbym podkreślić dobrze napisany Wstęp oraz czytelne opisy większości wykonanych doświadczeń. Co prawda w recenzji tej wymieniłem stosunkowo dużo błędów edytorskich, niemniej jednak nie wpłynęły one na ogólne zrozumienie treści pracy, a z drugiej strony, przy tak obszernej pracy (229 stron) trudno jest unikać pomyłek redakcyjnych.

W ogólnej ocenie rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy chciałbym raz jeszcze podkreślić jej interdyscyplinarny charakter, przejawiający się wykonaniem części chemicznej i biologicznej projektu naukowego, co niewątpliwie stanowiło dużą trudność, a wręcz wyzwanie, nie tylko w zakresie samodzielnego przeprowadzenia obu etapów badań ale także opisu ich rezultatów i interpretacji wyników. Otrzymane rezultaty są cenne naukowo i mimo wskazanych przeze mnie problemów związanych z interpretacją wyników eksperymentów biologicznych, dostarczyły ważnych informacji, zaś ostatecznie wyciągnięte ogólne wnioski (przedstawione na str. 198) są poprawne.

W związku z powyższym stwierdzam, że oceniana praca spełnia wymagania dotyczące rozpraw doktorskich, określone odpowiednimi przepisami. Wnioskuje zatem o dopuszczenie Pani mgr Joanny Kreczko-Kurzawy do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn