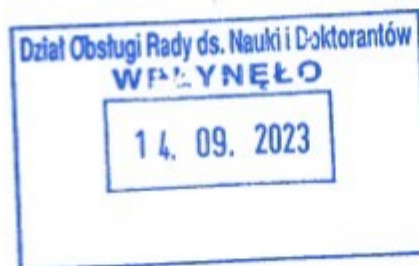


Prof. dr hab. Dorota Hilszczańska
Zakład Ekologii Lasu
Instytut Badawczy Leśnictwa
Sękocin Stary, 05-090
Ul. Braci Leśnej 3



Recenzja rozprawy doktorskiej

Pana mgr. Aleksandra Roszczyka

pt. „**Wpływ wzbogaconego selenem polisacharydu (Se-Le-30) izolowanego z grzybni *Lentinula edodes* na limfocyty T**”.

Podstawą prawną przygotowanej recenzji jest Uchwała Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 5 lipca 2023 roku, dotycząca wyboru recenzentów rozprawy doktorskiej mgr. Aleksandra Roszczyka pt. „Wpływ wzbogaconego selenem polisacharydu (Se-Le-30) izolowanego z grzybni *Lentinula edodes* na limfocyty T”.

Ocena ogólna

Oceniana rozprawa doktorska została przygotowana w formie trzech, spójnych tematycznie artykułów naukowych, opublikowanych w czasopismach naukowych o dużej renomie i dużym współczynniku wpływu Impact Factor.

Przedłożony do recenzji cykl artykułów obejmuje:

1. Roszczyk Aleksander, Turło Jadwiga Zofia, Zagożdżon Radosław, Kaleta Beata. Immunomodulatory Properties of Polysaccharides from *Lentinula edodes*. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(16): 1-13
2. Kaleta Beata, Roszczyk Aleksander, Zych Michał, Kniotek Monika Joanna, Zagożdżon Radosław, Klimaszewska Marzenna Joanna, Malinowska Eliza, Pac Michał, Turło Jadwiga

Zofia. Selective Biological Effects of Selenium-Enriched Polysaccharide (Se-Le-30) Isolated from *Lentinula edodes* Mycelium on Human Immune Cells. *Biomolecules*. 2021; 11(12): 1-12

3. Roszczyk Aleksander, Zych Michał, Zielniok Katarzyna, Krata Natalia, Turło Jadwiga Zofia, Klimaszewska Marzenna Joanna, Zagożdżon Radosław, Kaleta Beata. Effect of Novel Selenopolysaccharide Isolated from *Lentinula edodes* Mycelium on Human T Lymphocytes Activation, Proliferation and Cytokines Synthesis. *Biomolecules*. 2022; 12(12):1-14

Łączny Impact Factor publikacji składających się na rozprawę doktorską mgr. Aleksandra Roszczyka wynosi 18,336, a suma punktów wg listy czasopism Ministerstwa Edukacji i Nauki to 340.

Ocena szczegółowa

Synteza prac obejmuje wstęp, w którym wyjaśniono motywację podjęcia tematu badań. Celem pracy było zbadanie immunomodulacyjnych właściwości wzbogaconych w selen polisacharydów izolowanych z grzybni *Lentinula edodes*, nazwanych Se-Le-30, w stosunku do ludzkich limfocytów T. Omówione zostało również podejście metodyczne przeprowadzonych badań.

Ważnym elementem rozprawy doktorskiej prezentowanej w formie cyklu spójnych tematycznie artykułów naukowych, będących autorstwem kilku osób, jest określenie wkładu merytorycznego i określenie udziału procentowego kandydata do stopnia doktora w poszczególnych publikacjach. Udział mgr. Aleksandra Roszczyka w każdej z publikacji wynosił 50 %, był zatem znaczący. W pierwszej z wymienionych publikacji, zatytułowanej „Immunomodulatory Properties of Polysaccharides from *Lentinula edodes*” mgr Aleksander Roszczyk wykonał przegląd literatury, zaplanował układ pracy i przygotował wstępną wersję manuskryptu. W publikacji drugiej doktorant wykonał analizę wpływu selenopolisacharydu na proliferację limfocytów i produkcję cytokin oraz na produkcję wolnych rodników tlenowych przez granulocyty. Opracował wyniki badań i wykonał analizę statystyczną oraz przygotował manuskrypt o druku. W trzeciej publikacji pt. „Effect of Novel

Selenopolysaccharide Isolated from *Lentinula edodes* Mycelium on Human T Lymphocytes Activation, Proliferation and Cytokines Synthesis” doktorant był odpowiedzialny za analizę wpływu selenopolisacharydu na proliferację limfocytów i produkcję cytokin przez limfocyty T. Wykonał analizę statystyczną i przygotował manuskrypt do druku. W tej pracy był również autorem korespondencyjnym, co wskazuje na dojrzałość naukową kandydata do stopnia doktora.

Rozprawa doktorska traktuje o ważnych zagadnieniach, zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i praktycznego. Doktorant podjął próbę wyjaśnienia wpływu polisacharydu Se-Le-30 na układ odpornościowy człowieka, kładąc nacisk na limfocyty T. |Dodatkowo, wykonał analizy (opisane w rozprawie), których celem było poznanie mechanizmów immunomodulacyjnego działania wymienionego polisacharydu.

W pierwszej publikacji o charakterze przeglądowym przedstawiono problem dotyczący immunomodulacyjnego działania polisacharydów izolowanych z gatunku *Lentinula edodes* w oparciu o dostępne dane literaturowe. Uwzględniono prace, w których badania prowadzono w modelach zwierzęcych oraz komórkach ludzkich. Na podstawie przeprowadzonej dyskusji wyników można wyciągnąć wniosek, że aktywność biologiczna lentinianu oraz innych alfa i beta -glukanów izolowanych z *L. edodes* zależy od sposobu ich ekstrakcji. Sposób jej prowadzenia ma wpływ na skład monosacharydów, masę cząsteczkową, stopień rozgałęzienia oraz konformację helikalną. Praca stanowi wyczerpujące wprowadzenie w tematykę badań przedstawionych w kolejnych publikacjach, składających się na rozprawę doktorską.

W publikacji drugiej przedstawiono wyniki badań wskazujące na specyficzne działanie Se-Le-30 w stosunku do limfocytów T i komórek NK (naturalne komórki cytotoksyczne). Badany polisacharyd hamował proliferację limfocytów T stymulowanych przeciwciałem anti-CD3 oraz alloantygenami w teście mieszanej hodowli limfocytów. Zaobserwowano zmniejszenie liczby TNF-alfa (czynnika martwicy nowotworu alfa) w limfocytach T oraz spadek aktywności komórek NK. Nie zaobserwowano natomiast zmian w limfocytach B i granulocytach. Wynik badań wskazują, że Se-Le-30 wyizolowany z *L. edodes* ma cechy odmienne niż większość beta-glukanów izolowanych z grzybów, wykazuje bowiem selektywną immunosupresję limfocytów T, a być może i naturalnych komórek cytotoksycznych - NK (potwierdzenie tego aspektu wymaga dalszych badań).

W publikacji trzeciej analizowano wpływ Se-Le-30 na proliferację, aktywację oraz profil wydzielanych cytokin u różnych populacji limfocytów T w hodowli ludzkich komórek mononuklearnych krwi obwodowej (PBMC). Użycie cytometrii przepływowej pozwoliło na ocenę działania Se-Le-30 na populacje limfocytów T, takie jak CD4+ i CD8+. Porównano także oddziaływanie Se-Le-30 aktywowane przeciwciałem anti-CD3 i przeciwciałem anti-CD3/CD28 na limfocyty T. Przy aktywacji pojedynczym sygnałem badany polisacharyd miał niższą ekspresję markerów aktywacji, proliferację oraz produkcję interleukiny: IL-2 i IL-4. Natomiast ekspresja markerów aktywacji była wyższa kiedy symulacja była prowadzona z użyciem dwóch sygnałów. Interesującym wynikiem jest fakt, że niezależnie od rodzaju stymulacji Se-Le-30 powodował wzrost produkcji interleukiny: IL-6 i IL-10. Ten wynik, zdaniem autorów, może wskazywać na wpływ Se-Le-30 na monocyty krwi obwodowej. Stąd, wykonano kolejne analizy na izolowanych z ludzkich komórek mononuklearnych krwi obwodowej limfocytach T, oceniono również wpływ Se-Le-30 na cząstki kontrolujące układ odpornościowy. Wyniki przedstawiono w niniejszym opracowaniu w odrębnym rozdziale (poza rozdziałem z publikacjami).

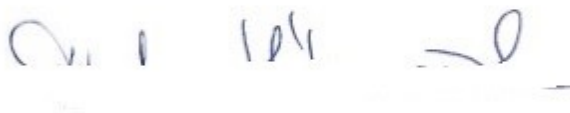
Badania zawarte w publikacjach zostały przeprowadzone w dobrze przemyślanym schemacie metodycznym. A cykl publikacji, składających się na rozprawę doktorską, jest logiczny i spójny tematycznie. Badania uzupełniające znacząco wzbogacają wyniki zawarte w rozprawie doktorskiej. Synteza pracy jest napisana na ogół poprawnie i dobrze się ją czyta.

Doktorant przedstawił wieloaspektowy cel pracy, który został zrealizowany. Szkoda jednak, że nie sformułował hipotezy badawczej. Wtedy ułatwione byłoby formułowanie wniosków. Mam wątpliwości czy wniosek nr 1 spełnia definicję wniosku, podobnie jak wniosek nr 8, który jest przypuszczeniem, zawiera słowo „prawdopodobnie”, co wymaga potwierdzenia. Jest sformułowany w sposób typowy dla hipotezy. Moje uwagi o charakterze redakcyjnym czy stylistycznym dotyczą: kolejności publikacji wchodzących w skład rozprawy podanych na str. 9., innej niż ta, w jakiej są omawiane (26-28); w komentarzach czy podpisach pod rycinami, które dotyczą różnic, zamiast pisać „statystycznie istotne” wystarczy „istotne”, gdyż jest oczywiste, że wyniki były poddane analizie statystycznej. Użycie pewnych zwrotów, typowych dla „żargonu naukowego” zaznaczyłam w tekście manuskryptu.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Praca doktorska Pana mgr Aleksandra Roszczyka pt. „**Wpływ wzbogaconego selenem polisacharydu (Se-Le-30) izolowanego z grzybni *Lentinula edodes* na limfocyty T**”.

istotnie przyczynia się do rozwoju wiedzy na temat możliwości wykorzystania polisacharydów izolowanych z grzybów wielkoowocnikowych w medycynie. Stwierdzam, że przedłożony do recenzji cykl publikacji, stanowiących ww. rozprawę doktorską jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego i spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2017 r., poz. 1789, z późn. zm.). W związku z tym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Sękocin Stary, 08 września 2023 roku