



**Katedra i Zakład Farmakognozji
z Pracownią Roślin Leczniczych
UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE
ul. Chodźki 1, 20-093 LUBLIN**

tel./fax +48 81448 7080 e-mail: secretary@pharmacognosy.org

Lublin, 07.03.2019

Ocena rozprawy habilitacyjnej oraz dorobku naukowego, działalności dydaktycznej i organizacyjnej dr Przemysława Sitarka, w związku z postępowaniem habilitacyjnym prowadzonym przez Radę Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, w dziedzinie nauk farmaceutycznych

1. Dane biograficzne i przebieg pracy zawodowej

Pan Przemysław Sitarek urodził się 4 lutego 1984 roku w Sieradzu. W roku 2008, po ukończeniu studiów na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, Kierunek: Biologia, specjalność: biochemia, na podstawie obronionej pracy magisterskiej pt. *„Polimorfizm genów biorących udział w metabolizmie estrogenów w raku i rozrostach endometrium”* (wykonanej w Zakładzie Genetyki Molekularnej pod kierunkiem prof. dr hab. Janusza Błasiaka) uzyskał dyplom magistra biologii. Dalszą pracę naukową dr Przemysław Sitarek kontynuował na Wydziale Wojskowo-Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, gdzie pod opieką prof. dr hab. n. med. Ireneusza Majsterka prowadził badania do pracy doktorskiej. 24.02.2012 r. dr Sitarek otrzymał tytuł doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej i specjalności genetyka na podstawie złożonych egzaminów i obronie dysertacji pt. *„Znaczenie ekspresji i polimorfizmu genów COX-2, LF, OSF02 oraz MET dla patogenezы przewlekłego zapalenia zatok przynosowych z polipami nosa”*.

Od kwietnia 2013 roku dr Przemysław Sitarek zatrudniony jest na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Analizując przebieg pracy zawodowej Habilitanta stwierdzam, że rozwój naukowy Pana doktora był prawidłowy, oparty na szerokiej współpracy z ośrodkami krajowymi i zagranicznymi. Na uznanie zasługuje wypracowanie zupełnie nowej tematyki habilitacyjnej w odniesieniu do badań prowadzonych przed otrzymaniem stopnia doktora.

2. Ocena osiągnięcia naukowego zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego

Zgodnie z art. 16 ust. 2 Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz. 595 ze zmianami) dr Przemysław Sitarek przedstawił do oceny w postępowaniu habilitacyjnym osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę habilitacji jako cykl siedmiu prac oryginalnych,

pod wspólnym tytułem: „*Wytwarzanie metabolitów wtórnych w kulturach in vitro Leonurus sibiricus L. oraz określenie ich właściwości biologicznych*”. Prace te zostały opublikowane w latach 2016-2018. Łączna wartość osiągnięcia mierzona współczynnikiem oddziaływania *Impact Factor (IF)* wynosi 24,713, co przekłada się na 195 punktów MNiSW.

Zapoznając się z opisanym indywidualnym wkładem w autorstwo poszczególnych prac stwierdzam, że dr Przemysław Sitarek posiadał rolę wiodącą w procesie przygotowania i opracowania wybranych do oceny w postępowaniu habilitacyjnym publikacji. Zapoznając się z oświadczeniami współautorów publikacji wskazanych przez Pana dr Przemysława Sitarkę do oceny w postępowaniu habilitacyjnym, zauważyłam podwójnie złożone oświadczenie Pani Catariny Garcia. Obydwa załączniki o tej samej treści opisują udział Pani magister w publikacji nr 3, natomiast brak jest zgody Pani magister na wykorzystanie przez Habilitanta publikacji nr 4, opublikowanej w czasopiśmie „*Molecular Biology*” w 2017. Ze względu na możliwość powołania się na Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30 października 2015 r. (Dziennik Ustaw z 2015r. poz. 1842), podpis Pani magister jako siódmego w kolejności autora nie jest konieczny.

Dr Przemysław Sitarek we wszystkich siedmiu pracach jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Z przedstawionej dokumentacji i załączonych publikacji wynika, że udział Habilitanta w osiągnięciu naukowym, o którym mowa w art. 16 ust. 2 Ustawy, był wiodący.

Habilitant za główne założenia osiągnięcia naukowego przedstawionego do oceny uznał opracowanie optymalnych warunków do przeprowadzenia procesu transformacji gatunku *Leonurus sibiricus* – znanego z różnorodnych zastosowań w tradycyjnej medycynie azjatyckiej, m.in. jako substancji przeciwbólowej, przeciwzapalnej, czy kardioprotekcyjnej – przy pomocy szczepu *Agrobacterium rhizogenes*. Przeprowadzenie tego procesu miało na celu zwiększenie wartości farmaceutycznej substancji i miało się wiązać ze zwiększoną syntezą cennych z farmakologicznego punktu widzenia metabolitów wtórnych przez roślinę, jak również bardziej efektywnego zastosowania jej w terapii nowotworów, chorób bakteryjnych lub innych chorób o podłożu wolnorodnikowym.

Z uwagi na fakt, iż prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały już opublikowane i poddane ocenie, skoncentruję się na dokonaniach dr Przemysława Sitarkę w przedstawionych publikacjach i odniosę się do głównych założeń, jakie wyznaczył sobie Habilitant, realizując cykl pracochłonnych badań.

Do osiągnięć tych zaliczyć należy otrzymanie roślin *Leonurus sibirica* L. z pędów zregenerowanych *in vitro*, selekcję linii kultur korzeni transformowanych, korzeni z nadekspresją czynnika transkrypcyjnego AtPAP1, optymalizację warunków rozdzielania chromatograficznego wyciągów z *L. sibirica*, identyfikację głównych metabolitów w wyciągach, porównawczą analizę ilościową wyciągów pod kątem różnic pomiędzy wyciągami transformowanymi i nietransformowanymi, badania aktywności przeciwnowotworowej (określenie potencjału cytotoksycznego i indukcji apoptozy), antyoksydacyjnej, przeciwbakteryjnej, badania potencjału naprawczego i ochronnego

wyciągów w stosunku do DNA, mitochondriów (mtDNA i nDNA), a także badania wpływu ekstraktów wodno-alkoholowych na cykl komórkowy.

Niewątpliwym osiągnięciem dr Przemysława Sitarka jest wypracowanie optymalnych warunków transformacji, warunków chromatograficznych, warunków prowadzenia hodowli komórkowych oraz warsztatu do prowadzenia modyfikacji genetycznych, używanych w celu zwiększenia potencjału farmakologicznego badanej rośliny.

Wybrane do oceny prace w sposób logiczny powiązane są w całość i pokazują wszechstronność zainteresowań naukowych i duże umiejętności interdyscyplinarne Habilitanta.

Prezentowane na kartach publikacji wyniki badań Pana doktora rzucają nowe światło na gatunek *Leonurus sibiricus* i zachęcają do włączenia tej rośliny, a precyzyjniej mówiąc – transformowanych korzeni serdecznika – do badań *in vivo* w chorobach nowotworowych oraz pochodzenia bakteryjnego. Zgodnie z wynikami badań Pana doktora proces transformacji przy pomocy bakterii *Agrobacterium rhizogenes* pozwolił znacząco (nawet trzykrotnie) zwiększyć zawartość metabolitów z grupy związków fenolowych (np. kwasu chlorogenowego, kwasu kawowego, czy werbaskozydu) w wyciągach. Zwiększona zawartość metabolitów pociągnęła za sobą obniżenie wartości IC50 transformowanych wyciągów wodno-alkoholowych oraz olejku eterycznego w badaniach na linii glejaka ludzkiego w IV stadium zaawansowania, wzrost poziomu ekspresji genów *TP53* i *Bax*, zwiększenie właściwości przeciwbakteryjnych (np. w stosunku do *Pseudomonas aeruginosa*), przeciwgrzybiczych (np. *Candida albicans*), jak również silniejsze działanie przeciwzapalne uwarunkowane obniżeniem poziomu ekspresji genów m.in. *IL-1b*, *IL-6*, *TNF-a*.

Kolejnym dokonaniem Habilitanta było uzyskanie zwiększenia syntezy kwasów fenolowych w korzeniach badanego gatunku serdecznika po zastosowaniu szczepu *A. rhizogenes* ze zmodyfikowanym wektorem pCAMBIA 1305.1 kodujący czynnik transkrypcyjny AtPAP1. Te cenne badania pozwoliły zwiększyć syntezę kwasów fenolowych w roślinie: np. 4,7-krotnie w przypadku kwasu chlorogenowego, czy 2,7-krotnie dla kwasu kawowego. Otrzymane rezultaty pozwoliły zaobserwować znacząco silniejsze właściwości przeciwnowotworowe i przeciwbakteryjne sklonowanych korzeni. Dodatkowo, w Swoich badaniach dr Sitarek potwierdził wpływ wyciągów na indukcję apoptozy komórek nowotworowych poprzez różne szlaki apoptyczne.

Uwagę w cyklu prac zwraca również wykonana ocena potencjału wyciągów z *L. sibiricus* do uszkodzenia DNA komórek nowotworowych. Ilość uszkodzeń w komórkach glejaka ludzkiego w IV stadium była istotnie większa dla wyciągów z korzeni klonowanych niż tych jedynie transformowanych. Na uwagę zasługuje również badanie wpływu otrzymanych wyciągów na mitochondrialne oraz jądrowe DNA.

Po zapoznaniu się z przedstawionym osiągnięciem, będącym podstawą habilitacji, stwierdzam, że na uwagę zasługuje umiejętne zastosowanie metod i narzędzi badawczych oraz waga podjętej tematyki. Pan Doktor profesjonalnie planuje i przeprowadza eksperymenty, z rozwagą i dojrzałością odnosi się do otrzymanych wyników. Nie mam wątpliwości, że dr Przemysław Sitarek posiada nie tylko predyspozycje do pracy

eksperymentalnej, ale również duże doświadczenie, pozwalające na samodzielność naukową. Chciałabym w tym miejscu zaznaczyć, że oceniane prace są bardzo spójne tematycznie i można wyróżnić w nich koherentne obszary. Jednym z nich jest opracowanie warunków prowadzenia biotransformacji organów gatunku *Leonurus sibiricus*, kolejnym – badanie składu jakościowego oraz ilościowego wyciągów z transformowanych i nietransformowanych organów rośliny przy pomocy chromatografii GC i HPLC, także sprzężonych z detektorem MS, jak również ocena potencjału biologicznego – działania przeciwbakteryjnego, przeciwnowotworowego i antyoksydacyjnego wyciągów; ponadto badania poziomu ekspresji genów i prowadzenie nadekspresji czynnika transkrypcyjnego AtPAP1 w celu zwiększenia produkcji metabolitów wtórnych przez roślinę.

Na zakończenie tej części opinii chciałabym podkreślić, że bardzo wysoko oceniam cykl siedmiu publikacji stanowiących osiągnięcie będące podstawą habilitacji. Prace te prezentują wysoki poziom naukowy i wnoszą nowe istotne dane do poruszanej tematyki badawczej. Wykonano je we współpracy z wiodącymi ośrodkami w dziedzinie. Potwierdzeniem powyższych tez jest opublikowanie wyników badań w uznanych, recenzowanych czasopismach specjalistycznych o zasięgu międzynarodowym.

3. Pozostała działalność naukowo-badawcza

W pierwszym etapie swojej pracy naukowej, jeszcze przed otrzymaniem stopnia doktora nauk, dr Przemysław Sitarek zajmował się genetyką medyczną. Habilitant w tym okresie realizował tematykę badawczą związaną z badaniem polimorfizmu genów zaangażowanych w rozwój nowotworów, polipów nosa, zapaleniem zatok i innymi. W badaniach zaobserwował istotny wpływ podwyższonej ekspresji badanych genów (m.in. COX-2, LF, OSF-2, MET) na patogenezę różnych chorób. Wnioski ze swoich badań dr Przemysław Sitarek wyciągał w oparciu o metodę RFLP-CR.

Zdobyte na tym etapie rozwoju naukowego doświadczenie oraz wyniki badań Habilitant prezentował na kartach trzech czasopism, w tym dwóch wysokoimpaktowanych (2,344, tj 20 pkt. MNiSW oraz 2,929 – 15 pkt MNiSW).

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora dorobek naukowy Habilitanta uległ istotnemu zwiększeniu. Dr P. Sitarek swoje zainteresowania genetyką przeniósł na badania genetyczne oraz biotechnologiczne roślin. W swoich pracach naukowych prezentuje umiejętności prowadzenia transformacji genetycznych wielu gatunków roślinnych oraz wpływu tych działań na zmianę właściwości biologicznych modyfikowanych roślin.

Analizując prace nie wchodzące w skład osiągnięcia naukowego będącego podstawą habilitacji, uwagę zwraca rozległa tematyka badawcza Habilitanta poruszająca zarówno badania aktywności biologicznej wyciągów roślinnych (np. aktywności przeciwnowotworowej, przeciwbakteryjnej, antyoksydacyjnej prowadzonych na liniach komórkowych), jak i przygotowania ekstrakcji i ewaluacji składu otrzymanych wyciągów. Habilitant w niniejszych pracach dociekał mechanizmów działania poszczególnych roślin, wykorzystując swoją wiedzę z zakresu genetyki oraz biochemii. Na podkreślenie zasługuje

różnorodność zainteresowań farmakognostycznych dr P. Sitarka. Techniki badawcze oraz analitykę tak odmiennych chemicznie grup metabolitów wtórnych, jak terpeny, flawonolignany, irydoidy, a także związki fenolowe można znaleźć na kartach prac współautorstwa Pana doktora.

Oprócz badań na roślinach Pan doktor Sitarek wciąż kontynuował zaczęte przed doktoratem badania wpływu polimorfizmu genów na zapadalność na różne choroby. W opublikowanej w 2015 roku pracy Pan doktor opisał wzrost poziomu ekspresji genów w przewlekłym stanie zapalnym błony śluzowej nosa i zatok, a w 2017 roku opisywał zaobserwowane różnice w poziomie ekspresji genów u pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimer'a, w porównaniu do osób zdrowych.

Dr Przemysław Sitarek kierował dwoma projektami badawczymi dla młodych naukowców finansowanych przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi – w latach 2017-2019 (*„Podwyższenie produkcji kwasów fenolowych poprzez nadekspresję czynnika transkrypcyjnego AtPAP1 w korzeniach transformowanych Leonurus sibiricus L. i właściwości biologiczne ekstraktów z korzeni transgenicznych”*) oraz 2015-2017 (*„Otrzymywanie kultur in vitro z roślin wytwarzających diterpeny o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. Badania fitochemiczne i biologiczne”*). Na Swoje badania dr Sitarek nie otrzymał wsparcia finansowego ze strony ogólnopolskich ani europejskich instytucji finansujących naukę.

Analiza bibliometryczna wykazała, że do dorobku naukowego Habilitanta można zaliczyć 28 pełnotekstowych prac, w tym aż 27 zamieszczonych w czasopiśmie znajdujących się na liście filadelfijskiej, posiadających IF w zakresie od 0,869 do 4,936. Łączna liczba punktów IF tych prac wynosi 81,962 (718 pkt. MNiSW). W skład dorobku twórczego wchodzi również jedna praca oryginalna opublikowana w czasopiśmie bez IF (15 pkt MNiSW) oraz jedna praca poglądowa w czasopiśmie z IF (IF=4,593, 30 pkt. MNiSW). Do omawianej twórczości naukowej Habilitanta należy jeszcze dodać 30 prezentacji plakatowych (21 przedstawionych na konferencjach międzynarodowych). Niestety, Habilitant nie posiada w swoim dorobku wystąpień ustnych na konferencjach naukowych.

Całkowity IF publikacji, liczony zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi 86,555 punktów, co przekłada się na 763 punkty MNiSW. Według bazy *Web of Science* prace Habilitanta w dniu sporządzonego przez bibliotekę zestawienia cytowane były 115 razy, indeks *h* wynosił 9. Liczba cytowań według bazy *Scopus* wynosiła 155, a indeks Hirscha podobnie, tj. 9. Obserwowany wzrost cytowani od 2014 roku jednoznacznie wskazuje na uwagę i aktualność poruszanej przez Habilitanta tematyki badawczej.

Za prowadzoną działalność naukową dr Przemysław Sitarek został wielokrotnie wyróżniony - otrzymywał nagrody od władz uczelni Uniwersytetu Medycznego w Łodzi – dziesięć nagród zespołowych I, II i III stopnia za cykl publikacji autorstwa Pana doktora przyznane w latach 2012-2017.

Podsumowując, całkowity dorobek naukowy Kandydata uważam za bardzo dobry i znacznie powiększony od czasu uzyskania stopnia naukowego doktora. O pozycji naukowej, jaką posiada dr Przemysław Sitarek w środowisku naukowym świadczy także szeroko rozwinięta współpraca naukowa z zagranicznymi i polskimi ośrodkami badawczymi, jak również

różnorodność podejmowanej tematyki badawczej, co pozwoliło na zdobycie wielu umiejętności badawczych i poszerzenie wiedzy z zakresu oceny właściwości biologicznych oraz badań różnego rodzaju metabolitów wtórnych pochodzenia roślinnego.

4. Działalność dydaktyczna i organizacyjna

O ile działalność naukowa Habilitanta jest ponadprzeciętna i warta wyróżnienia, moim zdaniem dorobek dydaktyczny i popularyzatorski Pan dr Sitarek powinien rozwinąć w Swojej dalszej pracy zawodowej. Pan Doktor jest członkiem dwóch krajowych towarzystw naukowych. Ponadto uczestniczył w trzech szkoleniach obejmujących tematykę zawodową – dydaktyczną oraz naukową.

Pan doktor jest autorem recenzji 17 artykułów naukowych nadsyłanych do oceny do czasopism zagranicznych o wysokiej wartości współczynnika wpływu. Ta niewielka liczba z pewnością z upływem lat pracy znacząco wzrośnie.

Habilitant był promotorem trzech i opiekunem kolejnej pracy magisterskiej, jak również promotorem jednej pracy licencjackiej. Pan dr Przemysław Sitarek za swoją pracę dydaktyczną oceniany jest przez studentów bardzo wysoko. Habilitant prowadzi zajęcia z botaniki, biologii z genetyką i diagnostyki parazytologicznej dla studentów I stopnia kierunków: Farmacja, Analityka medyczna i Kosmetologia. Za działalność dydaktyczną został nagrodzony Dyplomem dla Najlepszego Nauczyciela Akademickiego.

5. Podsumowanie

Pan doktor Przemysław Sitarek jest wysokiej klasy naukowcem o szerokiej wiedzy i umiejętnościach, niewątpliwym ekspertem w dziedzinie farmakognozji, genetyki i biologii. Jego bogaty dorobek publikacyjny i talent badawczy oraz umiejętność współpracy w kraju i na arenie międzynarodowej, w pełni uzasadniają starania Pana doktora o status samodzielnego pracownika nauki.

Na podstawie przedstawionej powyżej oceny dotychczasowego dorobku naukowego i jego części wydzielonej jako osiągnięcie habilitacyjne Pana doktora Przemysława Sitarka stwierdzam, iż spełnia On ustawowe wymogi stawiane osobom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego.

W związku z powyższym, przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, wniosek o dopuszczenie Pana dr Przemysława Sitarka do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Lublin, 07.03.2019

dr hab. n. farm. Wirginia Kukuła-Koch

Wirginia Kukuła-Koch