



**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marty Krychowiak-Mańnickiej
pt.: „Połączenie nanocząstek srebra i metabolitów wtórnych produkowanych
w tkankach roślin owadożernych w walce z bakteryjnymi patogenami ludzkimi”**

Praca doktorska została wykonana w Pracowni Badania Związków Biologicznie Czynnych
Katedry Biotechnologii Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu
Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
pod kierunkiem dr hab. Aleksandry Królickiej, prof. UG

Recenzowana praca dotyczy badań nad potencjałem bakteriobójczym związków naftochinonowych w połączeniu z nanocząstkami srebra. Podjęta tematyka badawcza wpisuje się w zakres działań mających na celu poszukiwanie środków terapeutycznych, które pozwoliłyby przeciwstawić się narastającej antybiotykooporności drobnoustrojów powodujących choroby ludzi i zwierząt. Narastająca oporność przeciwdrobnoustrojowa, obejmująca infekcje powodowane przez bakterie, pasożyty, wirusy i grzyby, stanowi dramatyczne zagrożenie zdrowia publicznego zmniejszając efektywność chemioterapii, stanowiąc zagrożenie dla pacjentów pooperacyjnych oraz znacząco podnosi koszty opieki zdrowotnej. Rosnąca antybiotykooporność bakterii determinuje potrzebę poszukiwania nowych terapeutyków.

Związki pochodzenia naturalnego oraz związki syntetyzowane na bazie związków naturalnych cechują się ogromnym potencjałem przeciwdrobnoustrojowym, a ich udział w terapii chorób infekcyjnych szacowany jest obecnie na 75%. Wzrasta również liczba doniesień o aktywności przeciwdrobnoustrojowej i szerokim spektrum działania nanostruktur srebra. Zważywszy na powyższe oraz zastosowanie przez Doktorantkę podejścia polegającego na stosowaniu synergistycznych połączeń ekstraktów roślinnych oraz wybranych naftochinonów z nanocząstkami srebra czyni podjętą przez Doktorantkę tematykę badawczą aktualną, nowoczesną oraz cechującą się znaczącym potencjałem aplikacyjnym.

Zakres prac podjętych przez Doktorantkę jest bardzo szeroki i dotyczy zbadania aktywności przeciwbakteryjnej ekstraktów pozyskiwanych różnymi metodami z wybranych roślin owadożernych, zbadania nanocząstek o różnej strukturze i opłaszczonych różnymi

czynnikami stabilizującymi czy ligandami oraz połączeń tych nanostruktur srebra z ekstraktami pozyskiwanymi z wybranych roślin owadożernych. Autorka podjęła się wykazania, które z naftochinonów obecnych w ekstraktach roślinnych odpowiadają za ich działanie synergistyczne z nanocząstkami, a ponadto które z parametrów badanych nanostruktur srebra są istotne dla tego rodzaju oddziaływania. Celem zrealizowanych badań było również przybliżenie mechanizmów działania leżących u podstaw zjawiska synergizmu nanocząstek srebra i naftochinonów. Doktorantka określiła także poziom cytotoksyczności wybranych do badań naftochinonów, ekstraktów roślinnych, nanocząstek srebra oraz połączenia naftochinonu i nanocząstek srebra wykazujących synergizm działania względem keranocytów ludzkich. Ponadto w badaniach wykorzystujących organizm modelowy jakim jest *Caenorhabditis elegans*, Doktorantka oceniła toksyczność badanych synergistycznych połączeń naftochinonów i nanocząstek srebra oraz ich zdolność do usuwania infekcji bakteryjnych.

Przedstawiona praca została napisana bardzo starannie i przejrzyście. Układ ocenianej pracy jest klasyczny i obejmuje: streszczenia w języku polskim i angielskim, cele pracy, wstęp stanowiący część teoretyczną, następnie część doświadczalną, wyniki i ich dyskusję, wnioski oraz piśmiennictwo (272 pozycje). Praca liczy 164 stron, zawiera 22 tabele i 58 rycin. Praca jest niezwykle obszerna i napisana jest poprawnym językiem.

Cele pracy zostały sformułowane precyzyjnie a ich realizacja była konsekwentna. Opis uzyskanych wyników jest spójny oraz są one dobrze przedyskutowane z dotychczas opublikowanym piśmiennictwem.

Pani mgr Marta Krychowiak-Maśnicka po raz pierwszy podjęła się wykazania aktywności bakteriobójczej nie tylko metabolitów wtórnych ekstrahowanych z hodowanych *in vitro* roślin owadożernych ale również połączeń izolowanych naftochinonów z nanocząstkami srebra. Wykazała, iż u podstaw wysokiej skuteczności działania naftochinonów i nanocząstek srebra leży zjawisko synergizmu, które pozwala również na znaczące zmniejszenie efektywnej dawki każdego z komponentów. Doktorantka podjęła się również zbadania mechanizmów leżących u podstaw tego oddziaływania.

Porównana została również cytotoksyczność wybranych naftochinonów, ekstraktów roślinnych, nanostruktur srebra oraz synergistycznych połączeń naftochinonów i nanocząstek srebra w hodowlach ludzkich keranocytów oraz *Caenorhabditis elegans*.

Badania te wykazały, że połączenie 3-chloroplumbaginy z nanostrukturami srebra wykazujące synergizm w aktywności bakteriobójczej, dzięki obniżonemu o 97% jej efektywnemu stężeniu w obecności nanocząstek srebra, nie działa cytotoksycznie wobec ludzkich keranocytów. Natomiast badane naftochinony taką cytotoksyczność wykazywały w przeciwieństwie do stosowanych w badaniach preparatów nanocząstek srebra. Wybrane do badań naftochinony charakteryzowały się również istotnym działaniem toksycznym wobec nicieni w odróżnieniu od analizowanych nanocząstek srebra. W modelu infekcyjnym wykorzystującym *C. elegans* Autorka uzyskała wyniki wskazujące na potencjał połączeń nanocząstek srebra i naftochinonów w eliminacji infekcji *P. aeruginosa*.

Uwagi

Przygotowując tak obszerną pracę Autorka nie uniknęła drobnych błędów literowych i stylistycznych. Ponadto właściwsze wydaje się stosowanie pojęcia rycina w miejsce figura, co jest zapożyczeniem z języka angielskiego. Ponadto Tabela 8 nie została zacytowana w tekście.

Prosiłabym o wyjaśnienie dlaczego Autorka wybrała do pewnych badań 3-chloroplumbaginę rzadko występującą w świecie roślinnym zamiast plumbaginy znacznie bardziej rozpowszechnionej?

Konkluzja

Przedstawiona do recenzji prac doktorska Pani mgr Marty Krychowiak-Maśnickiej jest opracowaniem całościowym. Autorka do realizacji postawionych sobie celów wykorzystywała metody z bardzo wielu dziedzin: biotechnologii roślin, fitochemii, mikrobiologii, biochemii oraz fizyki. Badania zostały zaplanowane konsekwentnie, a część uzyskanych przez Doktorantkę wyników została już przedstawiona w dwóch artykułach opublikowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Prace te zostały przygotowane przez kilku autorów, natomiast w każdej z publikacji Pani mgr Marta Krychowiak-Maśnicka jest pierwszym autorem, a jej udział w opracowaniu koncepcji badań, ich wykonaniu oraz napisaniu manuskryptu jest znaczący.

Należy szczególnie podkreślić walor aplikacyjny przeprowadzonych prac. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki wskazują na potencjał nanostruktur srebra do zwiększania aktywności wybranych związków biologicznie czynnych, co prowadzi do znaczącego

zmniejszenia ich efektywnych stężeń toksycznych wobec patogenów bakteryjnych (aż o 97%).

Uważam, że pod względem merytorycznym i naukowym rozprawa doktorska mgr Marty Krychowiak-Maśnickiej pt.: „Połączenie nanocząstek srebra i metabolitów wtórnych produkowanych w tkankach roślin owadożernych w walce z bakteryjnymi patogenami ludzkimi” w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim.

Wnoszę do Wysokiej Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Marty Krychowiak-Maśnickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie Jej pracy doktorskiej.

ADIUNKT
Zakład Biologii Farmaceutycznej i
Biotechnologii Roślin Leczniczych
Sybilina-Baranek
Dr hab. n. farm. Katarzyna Sytkowska-Baranek
3.12.2018r.