



**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

prof. dr hab. Maria Bryszewska
Kierownik Katedry Biofizyki Ogólnej

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Agnieszki Katarzyny Borowik
„Wpływ wybranych nanocząstek metalicznych na aktywność modelowych
niskocząsteczkowych związków biologicznie czynnych”**

Promotor pracy: dr hab. Jacek Piosik, prof. UG

Promotor pomocniczy: dr Anna Woziwodzka

Postawą rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Katarzyny Borowik są wyniki zawarte w pięciu wieloautorskich artykułach opublikowanych w dobrych międzynarodowych czasopismach z listy JCR oraz obszerny podsumowujący autoreferat. W swojej rozprawie doktorskiej mgr Agnieszka K. Borowik zajęła się zbadaniem problemu, czy wybrane do badań nanocząstki są w stanie modulować aktywność biologiczną niektórych niskocząsteczkowych związków biologicznie czynnych. Wybranymi nanocząstkami były: fuleren C_{60} (FC_{60}) oraz nanosrebro (AgNPs) i nanoplatyna (PtNPs), których wpływ zbadano na związki biologicznie aktywne: mutagen akrydynowy ICR-191 i leki przeciwnowotworowe – doksorubicynę i cisplatynę. Badano mechanizm oddziaływania pomiędzy tymi związkami i nanocząstkami, w tym zdolność do tworzenia kompleksów, i następnie aktywność biologiczną związków po ich skompleksowaniu z nanostrukturami.

Jednym z badanych zagadnień był też wpływ funkcjonalizacji powierzchni nanocząstek na ich aktywność biologiczną, zdolność do tworzenia kompleksów z ICR-191 i modyfikację efektu toksycznego tego mutagenu po utworzeniu kompleksu z NPs. Do badań wzięto funkcjonalizowane dwoma kwasami nanocząstki srebra: AgNPs-TBA (resztami kwasu tiobarbiturowego) i AgNPs-MUA (resztami kwasu 11-merkaptoundekanowego). Doktorantka

stwierdziła tylko niewielki wpływ modyfikacji powierzchni nanocząstki na jej toksyczność względem badanych linii komórkowych oraz niewielkie wzmocnienie efektu toksycznego ICR-191 w kompleksie z funkcjonalizowaną NP. Szkoda, że badania modyfikacji powierzchni NPs wykonane zostały tylko dla jednego ich typu, bo nie pozwoliło to na wyciągnięcie bardziej ogólnych wniosków.

Zdolność do tworzenia heterokompleksów została dokładnie zbadana dla wszystkich nanocząstek (FC60, AgNPs i PtNPs) jedynie w oddziaływaniach z ICR-191, natomiast oddziaływania pozostałych związków aktywnych biologicznie z nanocząstkami zbadano jedynie fragmentarycznie (np. FC₆₀ z DOX). Miało to niewątpliwie związek z opublikowanymi wcześniej wynikami zespołu z Uniwersytetu w Kijowie, współpracującego z jednostką doktorantki. Rozumiem, że uzyskane dla potrzeb pracy doktorskiej i opublikowane przez doktorantkę wyniki dotyczące tych oddziaływań, miały być w zamyśle uzupełnieniem już istniejących. Problem oddziaływań prowadzących do tworzenia heterokompleksów został przebadany wnikliwie wieloma metodami biofizycznymi, w tym: spektroskopią UV-vis, fluorescencyjną, DLS (pomiar średnicy hydrodynamicznej), izotermiczną kalorymetrią miareczkującą.

Po zbadaniu zdolności tworzenia kompleksów badanych nanocząstek ze związkami aktywnymi biologicznie, doktorantka postanowiła sprawdzić, czy utworzone agregaty mają zmienioną aktywność mutagenną w porównaniu do nieskompleksowanych związków. Badania te wykonała przy użyciu bakteryjnego testu mutagenności z wykorzystaniem gram ujemnych bakterii *Salmonella typhimurium*. Część użytych do badań związków skompleksowanych z nanocząstkami miała obniżony potencjał mutagenny. Doktorantka zbadła też, stosując mikroskopię sił atomowych, czy mieszanina FC₆₀ i ICR-191 powoduje zmiany morfologii komórek bakterii, w szczególności ich błon komórkowych. Uzyskane wyniki wskazały na duże powinowactwo do powierzchni komórek zarówno nieskompleksowanego FC₆₀ jak i agregatu tej nanocząstki z ICR-191, co mogłoby sugerować rozluźnienie struktury błony sprzyjające lepszej penetracji substancji leczniczych do komórki.

W kolejnym etapie badań doktorantka sprawdzała toksyczność nanocząstek srebra (AgNPs, AgNPs-TBA, AgNPs-MUA), platyny (PtNPs) oraz utworzonych przez nie agregatów ze związkiem aktywnym biologicznie (ICR-191) w stosunku do dwóch eukariotycznych linii

komórkowych: prawidłowej (HaCaT - keratynocyty człowieka) i nowotworowej (MelJuSo - ludzka linia komórkowa czerniaka). Dla AgNPs doktorantka stwierdziła brak wyraźnych zależności toksyczności badanych związków od zawartości aktywnego srebra w próbce, wskazując na parę czynników, które mogły mieć na to wpływ. Nanocząstki platyny (PtNPs) natomiast były znacząco bardziej toksyczne w stosunku do nowotworowej linii komórkowej, co mogłoby je predestynować do zastosowań w chemioterapii.

Z całym szeregiem nowotworowych linii komórkowych (HCT-116, HeLa, KB-3-1, HL-60, Jurkat) doktorantka zbadała oddziaływanie fulerenu FC_{60} i jego kompleksu z cisplatyną (FC_{60} -CIS). W ogólności stwierdziła, że toksyczność kompleksu była większa/dużo większa niż czystej CIS w stosunku do wszystkich linii komórkowych, co jednoznacznie sugeruje sens stosowania skojarzonej terapii w leczeniu chorób nowotworowych.

Następnie doktorantka przeniosła swoje badania na poziom organizmalny, badając wpływ nanocząstek platyny na modelowy organizm, za jaki jest uważany nicienie *Caenorhabditis elegans*. Doktorantka nie zaobserwowała toksycznego działania nanocząstek platyny na ten organizm.

Nie jest rolą recenzenta szczegółowe omawianie uzyskanych przez Doktorantkę wyników, lecz ich ocena. W mojej opinii uzyskane przez Doktorantkę wyniki stanowią cenne rozwinięcie i uzupełnienie wcześniej prowadzonych badań. Budzą zaufanie, bo zostały uzyskane komplementarnymi nowoczesnymi technikami badawczymi, we współpracy z naukowcami polskimi i zagranicznymi zajmującymi się tą tematyką. Przede wszystkim jednak zostały opublikowane w dobrych periodykach naukowych, o dużej sile oddziaływania (IF) i wysokiej punktacji na liście MNIŚW czasopism, co gwarantuje ich wysoką jakość.

Autoreferat jest starannie opracowany pod względem edytorskim, poprawny językowo, aczkolwiek trafiają się pewne niezręczności językowe (np. „dalsze kontynuowanie” str. 68), niepozbawiony jest też tzw. literówek. Myślę, że warto byłoby ujednolicić nazewnictwo i przyjąć za właściwe wyrażenie „nanocząstki metaliczne”, a nie „nanocząstki metalowe”.

Pewne zastrzeżenia budzi rozdział autoreferatu zatytułowany „Wnioski końcowe”, bowiem w opinii recenzenta jest to raczej spis/podsumowanie uzyskanych w pracy wyników.

W pełni doceniając osiągnięcia doktorantki, Jej dorobek naukowy, jakość i wartość naukową wykonanych prac oraz jakość i profesjonalizm opracowania rozprawy uważam, że praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom naukowym na stopień naukowy doktora nauk biologicznych, zwracam się więc do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego z prośbą o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Agnieszki Katarzyny Borowik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
KATEDRY BIOFIZYKI OGÓLNEJ UE
M. Bryszewska
prof. zw. dr hab. Maria Bryszewska