

Prof. dr hab. Agnieszka Szalewska-Pałasz  
Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii  
Uniwersytet Gdański  
ul. Wita Stwosza 59  
80-308 Gdańsk  
email: Agnieszka.Szalewska@biol.ug.edu.pl  
phone: (+48) 58 523 6026

Gdańsk, 30.11.2018

**Recenzja rozprawy doktorskiej**  
**Pani magister Marty Krychowiak-Maśnickiej**  
**„Połączenie nanocząstek srebra i metabolitów wtórnych produkowanych w tkankach roślin**  
**owadożernych w walce z bakteryjnymi patogenami ludzkimi”**

Zwiększanie liczby i zasięgu bakterii patogennych opornych na antybiotyki jest zjawiskiem tak powszechnym, jak i niepokojącym w perspektywie zdrowia publicznego. Szczególne zagrożenie powodują bakterie będące czynnikami tak zwanych zakażeń szpitalnych, z uwagi na wielolekooporność spowodowaną selekcją i przekazywanymi na drodze m.in horyzontalnego transferu genami oporności na leki; jest to bardzo groźne zjawisko zwłaszcza w przypadku infekcji pacjentów po skomplikowanych zabiegach chirurgicznych, poddawanych leczeniu immunosupresyjnemu czy pacjentów z rozległymi oparzeniami. W sytuacji, gdy opracowanie nowych antybiotyków i wprowadzanie ich do leczenia jest procesem długotrwałym i obecnie dość ograniczonym możliwościami syntezy nowych leków, poszukiwania alternatywnych metod leczenia zakażeń bakteryjnych jest bardzo intensywnie rozwijany kierunkiem badań naukowych. W nurt tych badań wpisuje się rozprawa doktorska Pani mgr

Marty Krychowiak-Maśnickiej. Praca doktorska została wykonana w Pracowni Badania Związków Biologicznie Czynnych Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed, pod opieką Pani prof. Aleksandry Królickiej. Od lat, zespół Pani Profesor zajmuje się badaniem związków pochodzenia roślinnego, ich rolą i mechanizmami działania; w związku z tym Doktorantka w swojej pracy mogła oprzeć się na szerokiej wiedzy i doświadczeniu Pani Promotor i warsztacie badawczym Pracowni oraz Katedry Biotechnologii. Dzięki skorzystaniu z tych możliwości, Pani Krychowiak-Maśnicka, mogła zaprezentować bardzo dobrą i sumiennie wykonaną rozprawę doktorską.

Przedmiotem badań Doktorantki były wtórne metabolity roślin owadożernych, oraz ich działanie antybakteryjne w połączeniu z nanocząsteczkami srebra. Doktorantka podjęła się ambitnej i szeroko zakrojonej pracy badawczej nad szeregiem związków pochodzenia roślinnego, badania prowadzone były zarówno na ekstraktach jak i na pojedynczych związkach, których obecność w ekstraktach została stwierdzona. Zauważyć należy zarówno konsekwentnie prowadzoną linię badawczą, jak i staranne dokumentowanie wyników badań. W zakres pracy wchodziło zbadanie potencjalnego wzmocnienia efektów antybakteryjnych metabolitów roślin przez ich połączenie z nanocząsteczkowym srebrem, którego zastosowanie jest coraz szersze obecnie w medycynie. Takie badania wymagały zastosowania nie tylko dobrze dobranych metod mikrobiologicznych i analitycznych, ale i metod biofizycznych użytych dla scharakteryzowania nanostruktur; tu podkreślić należy, że zastosowany warsztat badawczy zdecydowanie wpłynął na wartość naukową i poziom zaprezentowanej rozprawy.

Za najważniejsze osiągnięcia pracy doktorskiej Pani Marty Krychowiak-Maśnickiej uważam:

- wykazanie antybakteryjnego efektu wtórnych metabolitów roślinnych, naftochinonów, w połączeniu z nanocząsteczkami srebra,
- scharakteryzowanie różnorodnych oddziaływań pomiędzy tymi związkami, zależne ich struktury,
- określenie synergistycznego antybakteryjnego działania określonych naftochinonów i srebra nanocząsteczkowego wobec bakterii patogennych (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*),



- zbadanie potencjalnych możliwości zastosowania połączeń naftochinonów i nanocząsteczkowego srebra w terapii zakażeń bakteryjnych, na modelu nicienia *C. elegans*.

Przedstawiona do oceny rozprawa ma typowy dla opracowań naukowych układ. Wstęp w zwięzły sposób wprowadza w zagadnienia lekooporności bakterii oraz potencjalnych zastosowań różnych związków antybakteryjnych. Cele pracy zostały podane w postaci szeregu zadań, jednakże zabrakło określenia jednego nadrzędnego celu prowadzonych badań - poproszę Doktorantkę o jego sprecyzowanie podczas prezentacji wyników podczas obrony. Rozdziały Materiały i Metody jasno opisują zastosowane podejścia doświadczalne. Dalszą część rozprawy stanowią połączone Wyniki i dyskusja. Zazwyczaj nie jest to zabieg zbyt fortunny w tego typu obszernych opracowaniach, jednakże tutaj Doktorantka świetnie poradziła sobie z tym zadaniem, wykazując się umiejętnościami i dojrzałością naukową. Opisy poszczególnych etapów realizacji zadań projektu są obszerne, zawierając uzasadnienie podjęcia określonych podejść doświadczalnych, opisy uzyskanych wyników i dyskusję jego znaczenia w kontekście prowadzonych badań jak i do tej pory opublikowanych danych literaturowych. Zakres cytowanych publikacji świadczy o zapoznaniu się z aktualnym stanem wiedzy w badanych dziedzinach nauki. Rozprawa zakończona jest wnioskami podsumowującymi osiągnięte rezultaty.

W obowiązku recenzenta jest również ocena strony poprawności językowej pracy. Rozprawa napisana jest ładnym językiem naukowym, poprawnym pod względem gramatyki i stylu, dbałość o stronę redaktorską pracy jest widoczna także w bardzo niewielkiej liczbie błędów literowych. Zauważyłam kilka niepoprawnych określeń, w tym stosowane w całej pracy określenie Figura zamiast Rycina, charakteryzacja zamiast charakterystyka, pelet zamiast osadu (są to ewidentne kalki z języka angielskiego) czy żargonowe stwierdzenie o zmniejszeniu liczby bakterii o 3 logarytmy. Ponadto, nie do końca poprawne jest użycie określenia o wrodzonej odporności bakterii. Błędy te nie umniejszają jednakże w żadnym stopniu jakości przekazu i wartości pracy.

Chciałabym poprosić Doktorantkę o odpowiedź na kilka uwag i pytań dotyczących rozprawy i znaczenia przedstawionych w niej wyników:

- udokumentowane w rozprawie działanie antybakteryjne wtórnych metabolitów roślin oraz ich połączeń z nanocząsteczkowym srebrem prowadzi do pytania o mechanizmy tego działania - poprosiłabym zatem o przedstawienie hipotez oraz możliwości dalszego badania molekularnych podstaw obserwowanych efektów,

- jaką korzyść biologiczną stanowi specyficzna dla roślin owadożernych obecność całego szeregu związków o działaniu antybakteryjnym,

- stosowanie jonów srebra jest rozpowszechnione obecnie w medycynie, produkcji opakowań, ubrań etc. Jakie mogą być możliwe zagrożenia obecnością nanocząsteczkowego srebra i jakie są możliwości jego akumulacji w organizmach?

- zastosowanie połączeń metabolitów roślinnych i nanocząstek srebra dla efektów antybakteryjnych i potencjalnej terapii zakażeń prowadzi do pytania o możliwość uzyskania przez bakterie oporności na te związki, oraz o potencjalny ich efekt mutagenny. Poprosiłabym Doktorantkę o ustosunkowanie się do tej kwestii podczas obrony rozprawy

- aktywność biologiczna wtórnych metabolitów roślinnych może być powiązana z generowaniem różnego rodzaju stresu dla komórki bakteryjnej. Jaką wobec tego rolę w efektach działania tych związków może pełnić odpowiedź ścisła bakterii?

W podsumowaniu, stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Marty Krychowiak-Maśnickiej spełnia wszystkie wymogi stawiane pracom doktorskim. Wartość naukowa pracy polegająca na scharakteryzowaniu antybakteryjnego działania związków pochodzenia roślinnego w powiązaniu z nanocząsteczkowym srebrem wnosi ważne podstawy wiedzy niezbędnej dla praktycznych aspektów badań nad związkami antybakteryjnymi. Należy też podkreślić, że część wyników zawartych w niniejszej rozprawie została już opublikowana w znanych czasopismach naukowych (PLoS One i Frontiers in Pharmacology, w obu tych pracach doktorantka jest pierwszym autorem). Biorąc pod uwagę wysoką ocenę prezentowanej rozprawy i jej wartość naukową, wnoszę do Wysokiej Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Marty Krychowiak-Maśnickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z uwagi na ambitne cele, ogromną ilość pracy oraz osiągnięte wyniki wnoszę również o nagrodzenie rozprawy stosownym wyróżnieniem.