

Kielce, 1.08.2019

Dr hab. Michał Arabski
Zakład Biochemii i Genetyki
Wydział Matematyczno-Przyrodniczy
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Agnieszki Małgorzaty Pudlarz

pt. „ Analiza aktywności biologicznej nanocząstek srebra i złota
z unieruchomionymi enzymami antyoksydacyjnymi”

Nadmierna produkcja reaktywnych form tlenu i towarzyszący jej stres oksydacyjny jest jednym z kluczowych ogniw w łańcuchu zmian patomechanicznych w przebiegu chorób o znaczeniu cywilizacyjnym. U podłoża schorzeń o charakterze neurodegeneracyjnym, nowotworowym, cukrzycy, czy też związanych z zaburzoną odpowiedzią immunologiczną leżą reakcje wolnorodnikowe. Poszukiwanie rozwiązań wyciszających stres oksydacyjny jest ważnym problemem o charakterze poznawczym, ale przede wszystkim o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym. Ten ostatni element szeroko rozumianych badań naukowych jest uwzględniony w koncepcji ocenianej pracy, co zdecydowanie jest jej mocnym atutem.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została wykonana w Zakładzie Biochemii Medycznej, Wydziału Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Na sumaryczny dorobek naukowy Doktorantki składa się 6 prac doświadczalnych o IF=8,335 i 99 punktów MNiSW. Podstawą o nadanie stopień doktora jest cykl 4 prac (jedna praca przeglądowa i 3 prace doświadczalne) o sumarycznym IF wynoszącym 4,358 i 64 punktów MNiSW:

- 1) Pudlarz AM, Szemraj J. Nanoparticles as carriers of proteins, peptides and other therapeutic molecules. *Open Life Sciences* 13(1), 285-298 (2018).
- 2) Pudlarz AM, Czechowska E, Ranoszek-Soliwoda K, Tomaszewska E, Celichowska G, Grobłeny J, Szemraj J. Immobilization of recombinant human catalase and gold and silver nanoparticles. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 185, 717-735 (2018).

- 3) Pudlarz AM, Ranoszek-Soliwoda K, Czechowska E, Tomaszewska E, Celichowski G, Grobleny J, Szemraj J. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 187, 1551-1568 (2019).
- 4) Pudlarz AM, Czechowska E, Karbownik MS, Ranoszek-Soliwoda K, Tomaszewska E, Celichowski G, Grobleny J, Habielska E, Gromotowicz-Popławska A, Szemraj J. The effect of immobilized antioxidant enzymes on the oxidative stress in UV-irradiated rat skin. *Nanomedicine* (w recenzji).

Powyższy, spójny tematycznie cykl prac to przemyślany i konsekwentnie zrealizowany plan badań mający na celu produkcję ludzkich rekombinowanych enzymów antyoksydacyjnych (katalaza oraz mitochondrialna dysmutaza nadadtlenkowa), opracowanie metody ich dystrybucji tj. unieruchomienie na zsyntetyzowanych nanocząstkach złota i srebra oraz weryfikacja uzyskanych koniugatów nanocząstka-enzym w badaniach *in vitro* oraz *in vivo* na modelu zwierzęcym.

Publikacja o charakterze przeglądowym wchodząca w skład cyklu to aktualny przegląd informacji dotyczących wykorzystania nanocząstek jako nośników różnych związków terapeutycznych, w tym białek i peptydów. Doktorantka szczegółowo omawia potencjalne zastosowanie liposomów, nanocząstek polimerowych, magnetycznych, złota, srebra oraz nanorurek węgla. Informacje te stanowią pełne wprowadzenie do części doświadczalnej rozprawy. Istotnym aspektem działalności naukowej Doktorantki m in. we współpracy z innymi ośrodkami naukowymi, zasługującym na podkreślenie, jest bardzo szeroki panel różnych technik doświadczalnych zastosowany w pracy doktorskiej służących realizacji jej celu. Na bogatą metodykę badań składa się:

- opracowanie bakteryjnego systemu ekspresji genów kodujących ludzką katalazę oraz SOD2 wraz z charakterystyką otrzymanych enzymów rekombinowanych z zastosowaniem metod SDS-PAGE, Western blot i oceną ich aktywności;
- synteza nanocząstek i ich charakterystyka z wykorzystaniem technik DLS oraz STEM na których immobilizowano uzyskane białka rekombinowane;
- badania *in vivo* uzyskanych koniugatów na modelu zwierzęcym, w tym ocena poziomu 7,8-dihydro-8-okso-deoksyguaniny, zredukowanego glutationu, aktywności dysmutazy nadadtlenkowej, peroksydazy glutationowej i katalazy, m in. na poziomie ekspresji genów.

Wybrany zestaw metod laboratoryjnych z zakresu genetyki drobnoustrojów, biotechnologii, chemii oraz biologii molekularnej pozwolił na weryfikację celu pracy doktorskiej i postawionych hipotez badawczych. Wynikiem prac jest uzyskanie białek rekombinowanych tj. katalazy oraz dysmutazy nadadtlenkowej unieruchomionych na nośniku i aktywnych wobec systemu antyoksydacyjnego komórek skóry zwierząt poddanych ekspozycji na promieniowanie UV. Sądzę, iż uzyskane produkty biotechnologiczne otwierają możliwości na dalsze badania w wykorzystaniu

powyższych koniugatów białek jako czynników terapeutycznych chronionych przed aktywnością proteolityczną, nie indukujących odpowiedzi immunologicznej czy też zdefiniowanych pod kątem specyfiki i wydajności transportu do komórek docelowych. Nawiązując do techniki immobilizacji białek na nośnikach srebra i złota zastosowanych przez Doktorantkę, mam pytanie dotyczące szczegółów procedury tzn. na ile metodyka jest uniwersalna do zastosowania w innych układach enzym-nośnik i na ile możliwa jest charakterystyka typów oddziaływań i rodzajów wiązań chemicznych.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Małgorzaty Pudlarz pt. „Analiza aktywności biologicznej nanocząstek srebra i złota z unieruchomionymi enzymami antyoksydacyjnymi” spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz 595 z późn. zm.). Osiągnięcia naukowe przedstawione w rozprawie doktorskiej oceniam bardzo wysoko i wnoszę do Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Małgorzaty Pudlarz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę aspekt praktyczny badań, ich interdyscyplinarność oraz ewidentny potencjał terapeutyczny, pragnę zgłosić rozprawę do wyróżnienia.

dr hab. Michał Arabski
Uniwersytet Jana Kochanowskiego
w Kielcach

