

Kielce, 1.08.2019

Dr hab. Michał Arabski

Zakład Biochemii i Genetyki

Wydział Matematyczno-Przyrodniczy

Uniwersytet Jan 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 punktach 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, Ranszek-Soliwoda K, Tomaszewska E, Celichowski G, Grobleny 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 ponadtlenkowa), 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. Istotny 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 ponadtlenkowej, 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 ponadtlenkowej unieruchomionych na nanonośniku 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 nanośnikach 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 Weroniki Świtlik 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