

Prof. dr hab. Helena Makulska-Nowak
Zakład Farmakodynamiki i Patofizjologii
Wydział Farmaceutyczny
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Ocena pracy pt. „Bakteriobójcze i immunomodulujące działanie nanocząsteczek magnetycznych sfunkcjonalizowanych pochodnymi 1,4-dihydropirydyny”, wykonanej przez Panią mgr Katarzynę Głuszek w Samodzielnej Pracowni Technik Mikrobiologicznych i Nanobiomedycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, pod kierunkiem prof. dr hab. Roberta Buckiego.

Zjawiskiem ograniczającym znacznie skuteczność leków chemioterapeutycznych, głównie antybiotyków, jest oporność drobnoustrojów. Oporność powstaje częstokroć z powodu nieuzasadnionego podawania antybiotyku, niewłaściwego jego wyboru, nieprawidłowego dawkowania, niewłaściwie dobranej drogi podania, a także przedwczesnego odstawienia leku. Szczególnie trudne jest zwalczanie zakażeń wywoływanych przez mikroorganizmy wielolekooporne, oporne na środki chemioterapeutyczne, uznane za leki „ostatnie szansy”, dlatego poszukiwanie nowych leków, skuteczniejszych lub o mniej niebezpiecznych działaniach niepożądanych, jest nadal w pełni uzasadnione. Ważnym aspektem poszukiwań jest również modyfikacja znanych już środków, które w nowej formie przewyższają właściwościami możliwości ich dotychczasowego wykorzystania.

W obszar tych uzasadnionych poszukiwań wpisują się przeprowadzone przez Panią mgr Katarzynę Głuszek badania, których wyniki stanowią treść ocenianej rozprawy doktorskiej.

Autorka, w celu zrealizowania podjętego tematu, przeprowadziła wielokierunkowe badania w różnych układach doświadczalnych, które umożliwiły Jej dokonanie oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej pochodnych 1,4-dihydropirydyny, zarówno w formie wolnej, jak i związanej na powierzchni nanocząsteczek magnetycznych, wobec wybranych bakterii i grzybów oraz oceny właściwości fizykochemicznych, cytotoksycznych i immunomodulujących tych związków w obydwu formach.

Pochodne 1,4-dihydropirydyny mimo, że znane od dawna, wprowadzone do leczenia w połowie lat siedemdziesiątych ubiegłego

stulecia jako środki skuteczne w leczeniu chorób układu krążenia, nadal wzbudzają zainteresowanie z uwagi na ich strukturę chemiczną, możliwości modyfikacji cząsteczki, amfipatyczne właściwości oraz podobieństwo do antybakteryjnych peptydów, występujących w organizmie człowieka. Dotychczasowe dane piśmiennictwa wskazują na wielokierunkowe działania tej grupy związków, takie jak działanie przeciwzapalne, wazodilatacyjne, przeciwdrgawkowe, przeciwnowotworowe, przeciwpierwotniakowe i przeciwgruźlicze. W świetle zatem problemu narastającej oporności drobnoustrojów, nieskuteczności wielu leków i dotychczasowej wiedzy o aktywności i mechanizmie działania omawianej grupy związków, badania w kierunku przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej aktywności pochodnych 1,4-dihydropirydyny, przeprowadzone przez Autorkę, są w pełni uzasadnione. Wyniki badań porównawczych, przedstawione przez Autorkę, wskazują na znacznie korzystniejsze działania pochodnych 1,4-dihydropirydyny, umocowane chemicznie na magnetycznym nośniku, od związków tych w formie wolnej.

Z dotychczasowych danych piśmiennictwa wiadomo, że zastosowanie nanosystemów zwiększa możliwości skutecznego leczenia w onkologii, radioterapii czy terapii genowej.

W ocenianej pracy funkcjonalizacja pochodnych 1,4-dihydropirydyny na nanocząsteczkach magnetycznych, dzięki ich unikatowym właściwościom, pozwoliła na otrzymanie nanosystemu o szerokim spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego. Syntezę nanocząsteczek przeprowadzono za pomocą zmodyfikowanej reakcji Massarta. Oceny właściwości fizykochemicznych zsyntetyzowanych nanosystemów dokonano przy pomocy analizy spektralnej w podczerwieni, analizy kalorymetrycznej, analizy termograwimetrycznej i analizy potencjału elektrokinetycznego. Analizę cech morfologicznych nanocząsteczek wykonano w transmisyjnym mikroskopie elektronowym. Aktywność zsyntetyzowanych nanostruktur porównywano także ze standardowymi antybiotykami oraz związkami wzorcowymi: katelicydyną LL-37 i cerageniną CSA-13. Oceny zdolności pochodnych 1,4-dihydropirydyny co wbudowywania się w strukturę błony biologicznej dokonano, stosując zawiesinę hodowli drobnoustrojów, takich jak *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*. Oceny aktywności przeciwgrzybiczej pochodnych 1,4-dihydropirydyny dokonano

zaś stosując zawiesinę komórek *Candida albicans*, *Candida glabrata*, wyizolowanych od pacjentów z chorobami onkologicznymi.

Praca Pani mgr Katarzyny Głuszek liczy 119 stron i składa się z 8 części: teoretycznego wstępu, sformułowania celu pracy, części doświadczalnej (w której zamieszczono dane dotyczące wykorzystanych materiałów i starannie omówiono zastosowaną metodykę badań), następnie przedstawienia uzyskanych wyników, dyskusji, wniosków, piśmiennictwa oraz streszczeń w języku polskim i angielskim. Analizy statystycznej wyników dokonano przy użyciu niesparowanego testu t-Studenta. Za znamienne statystycznie przyjęto wartość t, przy której $p < 0,05$. Obszerną część teoretyczną oraz dyskusję wyników Autorka przedstawiła w oparciu o 182 pozycje zarówno piśmiennictwa krajowego jak i obcojęzycznego z okresu ostatniego dwudziestolecia. Znajomość piśmiennictwa, interesująco przedstawiony wstęp, jak również dyskusja, świadczą o dobrym teoretycznym przygotowaniu Autorki do rozwiązania podjętego zadania badawczego. Treść pracy została poprzedzona indeksem skrótów, a w części końcowej Autorka zamieściła spis tabel i rycin.

Praca doktorska Pani mgr Katarzyny Głuszek została prawidłowo zaplanowana, zrealizowana i napisana, wyniki badań dobrze i przekonująco udokumentowane 46 starannie wykonanymi rycinami i 6 tabelami, a zastosowane metody wymagały dobrego przygotowania i znacznego już doświadczenia w pracy badawczej. Autorka nie ustrzegła się jednak drobnych uchybień w tekście o charakterze redakcyjnym (s. 18, wiersz 10; s. 70, wiersz 15), które nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

Przeprowadzone badania stały się podstawą do sformułowania przez Autorkę 3 logicznych wniosków, których treść upoważnia do stwierdzenia, że badane pochodne 1,4-dihydropirydyny umocowane chemicznie na magentycznym nośniku wykazują silniejsze działania przeciwdrobnoustrojowe niż ich formy wolne, silniejsze niż ludzka katelicydyna LL-37, zbliżone siłą działania do cerageniny CSA-13, a dodatkowo pochodne oznaczone symbolami D-19 i K-180 B wykazały właściwości antyoksydacyjne i hamujące prozapalną aktywność lipopolisacharydów, będących produktami bakterii Gram-ujemnych.

Wykazane przez Autorkę korzystne działanie pochodnych 1,4-dihydropirydyny, związanych na powierzchni nanocząsteczek sugerują celowość prowadzenia dalszych badań farmakologicznych, mikrobiologicznych

i klinicznych w kierunku możliwości wykorzystania tych związków jako potencjalnych środków skutecznych w leczeniu zakażeń.

Praca Pani mgr Katarzyny Głuszek wnosi nowe, wartościowe treści poznawcze i prakseologiczne. Oceniam ją bardzo dobrze i – w oparciu o powyższe – wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pani mgr farm. Katarzyny Głuszek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W mojej ocenie, zarówno wartość merytoryczna pracy, jak i jej wykonanie oraz bardzo staranne opracowanie, zasługują na wyróżnienie.



Helena Makulska-Nowak

Warszawa, dn. 31.08.2019 r.