

Lublin, 16.12.2019

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani magister Marzeny Mach**  
**„Badanie oddziaływań wybranych kationowych pochodnych fosfatydylocholiny**  
**z lipidowymi składnikami bakteryjnych i zwierzęcych błon komórkowych.”**

Rozprawa doktorska mgr Marzeny Mach została wykonana w Zespole Fizykochemii Powierzchni w Zakładzie Chemii Fizycznej i Elektrochemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem Pana dr hab. Pawła Wydro, prof. UJ. Celem badań było określenie wpływu selektywnie wybranych syntetycznych triestrów diacylo-fosfatydylocholiny o różnej strukturze hydrofobowej (EDOPC, EPOPC i EDPPC) na monowarstwy i dwuwarstwy lipidowe imitujące błony komórek, zarówno bakteryjnych jak i zwierzęcych. Przedstawione badania zostały częściowo sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer 2016/21/B/ST5/00266.

Przedstawiona do oceny dysertacja liczy 204 strony standardowego maszynopisu i została podzielona na dwie główne części: część literaturową i doświadczalną. Liczącą 48 stron część literaturową poprzedza krótkie wprowadzenie i jasno sformułowany cel pracy oraz spis stosowanych symboli i skrótów. Część doświadczalna pracy liczy 109 stron i zawiera opis stosowanych materiałów, układów pomiarowych i procedur eksperymentalnych, opis wyników oraz zwięzłą, ale wyczerpującą dyskusję wyników i wnioski. Praca zakończona jest syntetycznym podsumowaniem uzyskanych rezultatów, streszczeniem, załącznikami oraz wykazem literatury. Przygotowując dysertację Autorka wykorzystwała aż 338 pozycji literaturowych, w większości opublikowanych po 2000 roku. Świadczy to o dogłębnym poznaniu podjętego tematu oraz jego aktualności.

Praca została przygotowana w sposób niezwykle staranny, stanowi spójną i logiczną całość, która wskazuje na dojrzałość naukową Autorki i Jej dobre przygotowanie do pracy naukowo-badawczej.



Głównym celem przedstawionej do oceny dysertacji były badania wpływu wybranych triestrów diacylo-fosfatydylocholiny, Et-PC (lipoidów kationowych) na modelowe membrany komórek bakteryjnych i zwierzęcych. Wybrane do badań związki stanowią stosunkowo nową grupę kationowych lipoidów, które dodatkowo charakteryzują się niższą toksycznością. Ich amfifilowy charakter oraz obecność ładunku dodatniego sprawia, że mogą wykazywać szereg zastosowań medycznych, farmaceutycznych i biotechnologicznych, np. jako nośniki leków oraz nośniki materiału genetycznego w terapii genowej. Ponadto, ze względu na rosnącą w ostatnich latach liczbę lekoopornych szczepów bakterii, związki te badane są również pod kątem ich aktywności przeciwbakteryjnej. Błona komórkowa chroniąca wnętrze komórki jest pierwszym miejscem działania tych substancji, stąd ważne jest zbadanie ich wpływu na właściwości modelowych membran lipidowych. Wybór tematu badań jest bardzo aktualny i doskonale wpisuje się w nurt badań nad nowymi systemami kontrolowanego dostarczania leków, jak również substancji aktywnych o właściwościach bakteriobójczych.

Do badań Doktorantka wybrała dwa modele membran komórkowych: komórek bakteryjnych Gram ujemnych i komórek zwierzęcych, składających się odpowiednio z lipidów POPE, POPG i TOCL oraz POPC, SM i Chol. W pierwszym etapie badań wykonała fizykochemiczną charakterystykę jednoskładnikowych monowarstw poszczególnych lipoidów kationowych, a następnie zbadła ich wpływ kolejno na jednoskładnikowe, dwuskładnikowe i trójskładnikowe monowarstwy badanych lipidów będących składnikami błon komórek bakteryjnych i zwierzęcych. Na podstawie uzyskanych wyników dokonała termodynamicznej charakterystyki interakcji pomiędzy Et-PC i głównymi lipidami biomembran w układach modelowych. W kolejnym etapie wykonała analizy wpływu lipoidów kationowych na potencjał elektrokinetyczny, płynność, przepuszczalność oraz organizację dwuwarstwowych układów modelowych w postaci liposomów. Należy podkreślić, że badania zostały zaplanowane i przeprowadzone w sposób niezwykle spójny i logiczny. Na podkreślenie zasługuje również bardzo dobry wybór składu modelowych błon biologicznych.

Analizując przeprowadzone badania Autorka wykazała, że wbudowywanie się cząstek lipidów kationowych w modelowe membrany lipidowe przyczynia się do zmian ich płynności, przepuszczalności, oddziaływań międzycząsteczkowych oraz potencjału dzeta, a zmiany zależą od struktury i zawartości poszczególnych lipidów. W przypadku membran bakteryjnych wprowadzenie Et-PC powoduje pojawieniem się bardziej przyciągających oddziaływań międzycząsteczkowych, a obecność ujemnie naładowanych lipidów (fosfatydyloglicerolu i/lub kardiolipiny) może ułatwiać wbudowywanie się kationowych amfifili w biomembrany prowadząc tym samym do zaburzenia struktury i ładunku błony, a w konsekwencji śmierci komórki bakteryjnej. Natomiast wbudowywanie się Et-PC w strukturę membran komórek ssaków powoduje osłabienie interakcji między lipidami, co przyczynia się do wzrostu płynności, nieuporządkowania łańcuchów acylowych i przepuszczalności membrany. Następująca w ten sposób destabilizacja biomembrany może ułatwiać wnikanie leków lub materiału genetycznego przenoszonego we wnętrzu liposomów kationowych do wnętrza komórki patologicznej.

Podczas lektury rozprawy doktorskiej nasunęły mi się następujące uwagi, które z obowiązku recenzenta przytaczam:

- str. 64 „Potencjał dzeta mierzono przy wykorzystaniu zjawiska Dopplera...” Potencjał dzeta nie jest wielkością mierzoną bezpośrednio. Jest wyliczany na podstawie pomiarów ruchliwości elektroforetycznej. Proszę podać równanie, na podstawie, którego dokonywano obliczeń.

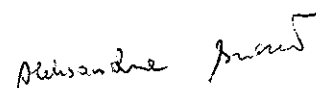
- W badaniach wykorzystujących techniki monowarstw Langmuira jako fazę nośną stosowano wodę redestylowaną i oczyszczaną dodatkowo w systemie Milli-Q, natomiast w preparatyce liposomów zbuforowany roztwór soli fizjologicznej (PBS) o pH 7,4. Jakiego było pH użytej wody? I czy planowane są badania z użyciem buforu jako subfazy oraz w temperaturze fizjologicznej tj. 37°C? Ewentualnie, jakich wyników spodziewa się Doktorantka stosując PBS zamiast wody jako fazę nośną?

- Wszystkie omawiane zdjęcia BAM powinny zostać zamieszczone w tekście lub jako suplementy. Brakuje np. omawianych na stronie 104 układów EDPPC/POPE/POPG/TOCL przy ułamku molowym EDPPC = 0,3-0,7.
- Autorka nie ustrzegła się też drobnych błędów stylistycznych i interpunkcyjnych.

Przedstawione uwagi w żaden sposób nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy, która stanowi oryginalne opracowanie aktualnego problemu naukowego i prezentuje wysoki poziom merytoryczny. Pani mgr Marzena Mach osiągnęła złożone cele i udowodniła, że potrafi samodzielnie prowadzić badania naukowe i prawidłowo interpretować uzyskane wyniki. Z przedstawionych w osobnym dokumencie osiągnięć naukowych Doktorantki wynika, że jest Ona współautorką 7 oryginalnych artykułów opublikowanych w czasopismach z listy JCR (w tym 3 wchodzących w skład rozprawy doktorskiej) oraz 39 doniesień konferencyjnych.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Marzeny Mach spełnia wszystkie wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim i wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy i aktualność tematyki badawczej, istotny wkład uzyskanych wyników w rozwiązanie postawionych problemów badawczych oraz aktywność naukową Doktorantki w postaci licznych publikacji w czasopismach o wysokim IF i wystąpień konferencyjnych składam wniosek o wyróżnienie recenzowanej rozprawy mgr Marzeny Mach.



Aleksandra Szczeń