

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Macieja Jaśkiewicza

pt.: „Aktywność peptydów przeciwdrobnoustrojowych wobec biofilmu gronkowcowego w warunkach przepływowych”

Recenzowana praca doktorska Pana magistra Macieja Jaśkiewicza została wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Promotorem pracy jest prof. dr hab. n. farm. Wojciech Kamysz.

Zakażenia drobnoustrojami są obecnie największym wyzwaniem współczesnej epidemiologii i farmakoterapii. Są one również przyczyną rozwoju Chemii Medycznej w zakresie poszukiwania nowych chemioterapeutyków. Dane epidemiologiczne wskazują, że zakażenia te wywoływane coraz częściej przez gram dodatnie bakterie, w szczególności *Staphylococcus aureus* odporne na metycylinę. Nadmierne stosowanie konwencjonalnych antybiotyków powoduje iż skuteczność ich jest coraz bardziej ograniczona, a pojawiająca się oporność na nie stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzkiego. Zatem podjęta tematyka badawcza przez Pana magistra Macieja Jaśkiewicza jest zasadna i wpisuje się w trendy nowoczesnej szeroko pojętej Chemii Medycznej.

Przedstawiona do recenzji dysertacja ma klasyczny układ rozdziałów dla tego rodzaju prac i składa się ze 168 stron maszynopisu. Pierwsze strony zawierają „Indeks skrótów”, „Spis treści” oraz podziękowania dla osób współpracujących z Doktorantem.

Część teoretyczną pracy stanowi 41 stron dysertacji. Napisana jest ona przejrzystym i klarownym językiem. Sprawia to, że jest ona przyjemna w czytaniu dla odbiorcy. Dodatkowo uzupełniona jest ona grafikami i schematami, które podwyższają wartość tej części pracy. Warto również zauważyć, że Doktorant napisał ją na podstawie przeglądu 237 pozycji literaturowych. Taka ilość świadczy, iż tematyka została w pełni wyczerpana. Obejmowała ona wszystkie zagadnienia związane z prowadzonymi badaniami. Doktorant scharakteryzował i opisał zarówno



aspekt biologiczny jakim był gronkowiec złocisty jak również elementy dotyczące poszczególnych analiz czyli przepływowy model badania biofilmu i w końcu peptydy przeciwdrobnoustrojowe, które mogą w przyszłości stanowić alternatywę w stosunku do klasycznych antybiotyków.

„Cel pracy” przedstawiony jest na jednej stronie maszynopisu. Został on precyzyjnie sformułowany i dotyczy badania aktywności wybranych peptydów przeciwdrobnoustrojowych wobec biofilmu gronkowcowego w warunkach przepływowych. Dla realizacji powyższego celu Doktorant doprecyzował zaplanowane badania co świadczy o jego dojrzałości naukowej i umiejętności planowania badań. Jednak prosiłbym o wytłumaczenie i uzasadnienie dlaczego w tytule pracy jak i w celu pracy Doktorant podkreśla wykonywanie badań w warunkach przepływowych skoro dotyczy to jedynie jednego z wykonanych doświadczeń.

Kolejną częścią pracy jest „Część doświadczalna” przedstawiona na 29 stronach. Doktorant przedstawia spis zarówno odczynników jak i aparatury, która była wykorzystywana podczas wykonywania poszczególnych badań. Następnie kolejno doktorant opisuje metodykę wszystkich badań począwszy od syntez, a kończąc na badaniach mikrobiologicznych. Poszczególne badania otrzymanych peptydów opisane są niezwykle klarownie i przejrzyste co umożliwia czytającemu dokładne prześledzenie prowadzonych doświadczeń. Sugerowałbym jedynie aby tworząc opisy syntez zwrócić uwagę na precyzyjne ich opisywanie. Nie mogłem doszukać się między innymi ilości i objętości poszczególnych składników używanych do syntez oraz niektórych parametrów np. przy analizie peptydów na str. 67 brak jest informacji o temperaturze celi pomiarowej i temperaturze kolumny przy HPLC co ma istotne znaczenie przy badaniach. Sugerowałbym też opisywać całą metodykę badań dla których podaje się wyniki – na stronach 68-70 mamy opisaną charakterystykę otrzymanych peptydów wraz z wynikami spektroskopii masowej dla której brak jest informacji o jej przeprowadzeniu w tym miejscu a jest ona podana dopiero w rozdziale „Appendix” na końcu pracy.

Zasadniczą i tak naprawdę najważniejszą częścią dysertacji są wyniki i dyskusja. W tej części pracy Doktorant przedstawił rezultaty swoich analiz wraz z dyskusją co do ich wyników. Rozdział ten jest przygotowany bardzo starannie. Analizując wyniki Doktorant w pierwszym etapie scharakteryzował szeroki wachlarz szczepów klinicznych pod kątem wrażliwości na antybiotyki konwencjonalne oraz wybrane peptydy (CAMEL, Citropina 1.1, LL-37, Pexiganan,



Temporyna A). Następnie wykazał, iż wrażliwość szczepów *S. aureus* na badane substancje jest niezależna od mechanizmów oporności na antybiotyki. Na tej podstawie wytypował reprezentatywną grupę szczepów do dalszych badań, co wskazuje na dogłębną analizę wyników i właściwe wyciąganie wniosków. W kolejnym etapie badań Pan magister badał wpływ wymiany przeciwjonów w peptydach oraz ocenił aktywność analogów o odwróconej sekwencji. Kolejne doświadczenia mikrobiologiczne, badanie stopnia hemolizy oraz badania na liniach komórkowych keratynocytów ludzkich (HaCaT) pozwoliły Doktorantowi wybrać peptydy o najkorzystniejszych właściwościach (Omiganan, który jest analogiem Indolicyny oraz jego analog o odwróconej sekwencji retro-Omiganan). Bardzo wartościową rzeczą pod względem naukowym jak i o potencjale aplikacyjnym było opracowanie układów przepływowych z poli(dimetylosiloksanu) (PDMS). Dzięki nim Doktorant mógł dokonać oceny eradykacji biofilmu utworzonego w przepływie, oraz długotrwałej ekspozycji peptydów na profil wrażliwości *S. aureus* oraz czy inkorporacja badanych peptydów zahamuje rozwój biofilmu *S. aureus* w przepływie. Można to zatem uznać za znaczące osiągnięcie, które stanowi z całą pewnością posłuży w rozwoju metod do terapii przeciwdrobnoustrojowej.

Pracę doktorską kończą streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spis literatury. Jest on przygotowany bardzo starannie i zawiera 314 pozycji opartych na podstawie najnowszych doniesieniach naukowych z ostatnich lat. Pracę kończy rozdział „Appendix” i zastanawiającym jest dlaczego doktorant użył nazwy rozdziału w języku angielskim, a nie skorzystał z polskiego odpowiednika typu suplement czy załączniki. Rozdział ten zawiera niezwykle istotne informacje, które moim zdaniem powinny znaleźć się bezpośrednio w tekście tak jak np. informacje o analizie masowej. W znacznej mierze ułatwiłoby to czytającemu analizę tekstu i wykonywanych badań.

Podsumowując, rozprawa doktorska Pana magistra Macieja Jaśkiewicza jest przygotowana bardzo starannie z dużą dbałością o walory estetyczne pracy, zwłaszcza w zakresie przygotowanych schematów. Doktorant prawidłowo przeprowadził wszystkie zaplanowane badania i analizy. Sposób formułowania wniosków jest godny uwagi ze względu na umiejętność interpretowania wyników w sposób klarowny i przejrzysty. Natomiast podjęta przez Doktoranta tematyka jest znacząca i może mieć wpływ na poszukiwanie nowych substancji, które skutecznie zwalczą będą zakażenia bakteryjne. Warto podkreślić iż Doktorant otrzymał nowe peptydy, u których wykazał wrażliwość szczepów *S. aureus* na otrzymane



peptydy. Ponadto jest ona niezależna od wrażliwości na antybiotyki konwencjonalne co ma znaczenie przy dalszych pracach badawczych nad otrzymaną grupą związków. Wykonując szerszy zakres badań w tym w warunkach przepływowych Pan magister wykazał, że dwa peptydy Omiganan i retro-Omiganan po inkorporowaniu do wnętrza kanału skutecznie hamują rozwój biofilmu, ponadto dodatkowo posiadają niską toksyczność to stanowią wysoki potencjał aplikacyjny przy opracowywaniu biomateriałów.

Podsumowując przygotowana przez Pana magistra Macieja Jaśkiewicza dysertacja w pełni spełnia warunki określone w Ustawie Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 2018 roku (Dz. U. nr 2018 poz. 1669). W związku z powyższym wnioskuję do Wysokiej Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pana magistra Macieja Jaśkiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.