

**Ocena pracy doktorskiej mgr Karoliny Witek
pt. „Evaluation of activity of selected chalcogen-containing compounds
against bacterial multidrug-resistance”**

wykonana na wniosek Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego –
Collegium Medicum

Cel, założenia i konstrukcja dysertacji

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska powstała w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJCM, pod opieką merytoryczną promotora dr hab. Jadwigi Handzlik, prof. UJ oraz promotora pomocniczego dr. Gniewomira Latacza, zaś realizowana była wielośrodkowo; w macierzystej jednostce oraz uczelniach zagranicznych; Saarland University w Niemczech oraz Aix-Marseille University we Francji. Rozprawa składa się z siedmiu rozdziałów, przy czym jej główna część, stanowiąca wkład Doktorantki do nauki, obejmuje rozdziały pierwszy, drugi, czwarty, piąty oraz podrozdział 6.3.8. Pozostałe części pracy to spis treści, wykaz współautorskich publikacji Doktorantki, streszczenie w języku angielskim i polskim, wykaz stosowanych skrótów, rozdziały trzeci i szósty poświęcone odpowiednio prezentacji metod i procedur pomiarowych oraz spis literatury cytowanej w rozprawie obejmujący aż 380 pozycji. Całość rozprawy zajmuje 192 strony.

Cel rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Witek jasno przebija z tytułu i dedykowany jest poszukiwaniu organicznych i nieorganicznych połączeń tlenowców oraz ich nanocząstek, skutecznych w walce z lekooporną bakterią poprzez własne lub adiuwantowe działanie przeciwbakteryjne wobec izolowanych klinicznie szczepów patogennych bakterii z grupy ESKAPE. Temat rozprawy niesłychanie ważny i priorytetowy – o praktycznych walorach podjętego problemu badawczego nie trzeba dziś nikogo specjalnie przekonywać.

Tak sformułowany cel dysertacji odpowiada rangą ambitnej pracy doktorskiej, a w praktyce sprowadza się do postawienia następujących zadań badawczych: (i) wyznaczenia własnego działania przeciwbakteryjnego testowanych związków w stosunku do Gram-dodatnich i Gram-ujemnych bakterii w testach seryjnych mikrorozcieńczeń w bulionie, (ii) określenia prawdopodobnych mechanizmów działania zidentyfikowanych struktur aktywnych, w tym ich zdolności do generowania wolnych rodników tlenowych, jak również do spontanicznej reakcji z grupami tiolowymi białek bakteryjnych, (iii) określenia dla wyselekcjonowanych związków ich potencjalnych właściwości adjuwanta antybiotyków w ogólnym teście wpływu na efektywność antybiotyku oraz w teście na aktywność inhibitora wybranych mechanizmów lekooporności bakteryjnej (pomp Msr(A) dla bakterii Gram-dodatnich i AcrAB-TolC dla bakterii Gram-ujemnych). Dla wybranych związków o charakterze adjuwanta/inhibitora

pompy dokonano głębszej analizy mechanizmów działania w oparciu o badania eksperymentalne (testy akumulacji bromku etyldyny EtBr lub fleroksacyny, kompetycyjnego hamowania wyrzutu 1,2'-DNA oraz hydrolizy nitrocefiny) oraz wsparte komputerowo rozważania teoretyczne (wpływ na cel białkowy PBP2a). Większość badań prowadzono z wykorzystaniem opisanych wcześniej metod eksperymentalnych, zaś test akumulacji EtBr w szczepie *S. epidermidis* z nadekspresją pompy Msr(A) został opracowany w ramach doktoratu.

Merytoryczna ocena rozprawy oraz uwagi o charakterze polemiczno-krytycznym

Wyjątkowo, recenzję rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Witek pozwolę sobie rozpocząć od konkluzji: brawo, brawo i jeszcze raz brawo! Albowiem przedstawiona do oceny praca jest dziełem wyjątkowym, z nawiązką zaspokajającym wymogi stawiane dysertacjom doktorskim. Stanowi przykład gruntownie przemyślanego i doskonale zrealizowanego studium, a skala, zakres oraz jakość badań w nim ujęta jest godna podziwu; poczynając od założeń projektu, koncepcji i planu badań, poprzez jego realizację po wnikliwą analizę uzyskanych wyników i wnioski z nich płynące. Opracowanie ma czytelną kompozycję metodyczną i wynika, jak miemam, zarówno z imponującego warsztatu autorki szlifowanej w zagranicznych ośrodkach naukowych, jak i wysokiego poziomu naukowego promotora powyższej rozprawy. To wyjątkowy przypadek, kiedy dysertacja doktorska nie odbiega koncepcją i poziomem naukowym od wymagań stawianych kandydatom ubiegającym się o samodzielność naukową, a nawet śmiem twierdzić, że nie rzadko je przewyższa. W takim właśnie świetle odczytuję przedstawioną do oceny rozprawę, która bardzo wysoko ustawia poprzeczkę oczekiwań wobec przyszłych dysertacji, w tym przede wszystkim tych realizowanych pod opieką kreślącej te słowa.

Po uspokojeniu Doktorantki, co do ostatecznej konkluzji recenzji, zważywszy na fakt, że dysertacja jest dostępna do wglądu publicznego w Bibliotece UJ, pozwolę sobie pominąć zwyczajowe streszczenie poszczególnych rozdziałów rozprawy i w dalszym etapie recenzji przejść do meritum, przedstawiając jedynie uwagi o charakterze polemiczno-krytycznym.

Pierwsza moja wątpliwość dotyczy niepotrzebnego – w moim odczuciu – „zonglowania” stężeniami hamującymi wzrost szczepów bakteryjnych, które raz są wyrażane w jednostce $\mu\text{g}/\text{mL}$, zaś innym – w jednostce mikromolowej. Taki sposób prezentacji wyników, widoczny choćby na stronie 67, wprowadza pewien chaos i utrudnia śledzenie wyników badań mikrobiologicznych. Jako chemik, osobiście byłabym za przyjęciem jednostki molowej, chociażby z tego powodu, że poszczególne serie związków, a zwłaszcza seria pierwsza od pozostałych, dość istotnie różnią się masami molowymi, co bezpośrednio przekłada się na potencjał przeciwbakteryjny.

Druga, nieco poważniejsza wątpliwość dotyczy braku informacji na temat toksyczności związków stanowiących temat rozważań w stosunku do komórek ssaczych. Można się domyślać po lekturze spisu publikacji Autorki, że badania takie, przynajmniej dla części związków, zostały wykonane, jednak z przyczyn mi nieznanych, w rozprawie umieszczone nie zostały. W moim odczuciu tak nie powinno być, co najmniej z dwóch powodów; po pierwsze, dysertacja powinna stanowić zamkniętą całość, a w tym konkretnym przypadku – bez wyników testów toksyczności – trudno wnioskować o rzeczywistym potencjale przeciwbakteryjnym, typowaniu związków do badań mechanistycznych czy też rzetelnej

analizie typu struktura molekularna-bioaktywność. Po drugie, – to moje prywatne spostrzeżenie – z reguły recenzenci nie lubią się domyślać, wolą wiedzieć.

Trzecia, ostatnia już, lecz jednocześnie najbardziej poważna wątpliwość tyczy się podrozdziału 4.1.2.3. W moim przekonaniu, zagadnienie zależności pomiędzy strukturą molekularną a bioaktywnością w nim ujęte zostało przedstawione w sposób powierzchowny i niewyczerpujący, a szkoda, bowiem to bardzo ważny element prac badawczych dedykowanych poszukiwaniom nowych struktur wiodących. Z podrozdziału tego dowiemy się jedynie o wpływie długości linkera, wielkości pierścienia oraz sposobie jego podstawienia na potencjał przeciwbakteryjny, co *de facto* odczytać już można z samej analizy wyników badań mikrobiologicznych. Nie przeanalizowane zostały natomiast istotne parametry steryczne i elektronowe, chociażby – dla przykładu – moment dipolowy, efekt indukcyjny, efekt rezonansowy, superpozycja obu efektów, które dałyby choć zgrubny pogląd na oddziaływanie cząsteczki w centrum aktywnym i(lub) allosterycznym białka PBP2a. Jest to o tyle zastanawiające, że Autorka dysponowała zoptymalizowanymi strukturami do przeprowadzenia rzetelnych analiz tego typu zależności. Z drugiej zaś strony, biorąc pod uwagę warsztat badawczy Doktorantki nie trudno wnioskować, że bliżej Jej jednak do zagadnień empirycznych niż teoretycznych. I bardzo dobrze; potrzebni są i jedni, i drudzy specjaliści. Należy jednak pamiętać, że sama konstrukcja tytułu zmusza czytelnika – nie wspominając już o recenzencie – do krytycznego konfrontowania treści zawartych w wywodzie z myślą przewodnią zasygnalizowaną tytułem.

Wnioski końcowe

Podsumowując, pragnę podkreślić, że przyszło mi recenzować wybitną rozprawę doktorską, z nawiązką zaspokajającą wymogi stawiane tego rodzaju opracowaniom w znowelizowanej ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. z późniejszymi zmianami. W świetle powyższego, z pełnym przekonaniem **wnoszę do Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego – Collegium Medicum o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Witek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Uważam, że całość wyводу naukowego, jak i zakres przeprowadzonych przez Doktorantkę badań empirycznych są w skali Polski unikatowe, a uzyskany poziom opracowania jednoznacznie dowodzi profesjonalizmu z preferencjami naukowego podejścia do podejmowanych tematów. Tym samym **wnoszę o wyróżnienie przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.**

pański cytot