



Dr hab. Paweł Wydro, prof. UJ
UNIwersytet Jagielloński w KRAKOWIE, WYDZIAŁ CHEMII
Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii
Zespół Fizykochemii Powierzchni
ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków
tel. (12) 686-25-19
e-mail: wydro@chemia.uj.edu.pl

Kraków, 20.12.2021

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Czyżowskiej

pt. „Biochemiczno-biofizyczne aspekty cytotoksycznego działania nanocząstek tlenku cynku”

Mimo, że syntetycznie wytwarzane nanomateriały pojawiły się stosunkowo niedawno to ich unikalne właściwości fizykochemiczne sprawiły, że bardzo szybko zyskały liczne zastosowania użytkowe i opanowały praktycznie cały rynek. Wśród powszechnie dostępnych nanomateriałów szczególną rolę odgrywają nanocząstki tlenku cynku (ZnO-NPs), które można odnaleźć niemalże wszędzie: w kosmetykach, farbach, opakowaniach, odzieży czy nawet w produktach spożywczych. Tak powszechne zastosowanie nanocząstek tlenku cynku wynika przede wszystkim z ich wyjątkowych właściwości, faktu, że w swej strukturze zawierają pierwiastek zaliczany do mikroelementów, a także nie zawierają toksycznych metali wydając się być materiałem całkowicie bezpiecznym. Okazuje się jednak, że dzięki swoim nanometrycznym rozmiarom nanocząstki ZnO, po dostaniu się do organizmu, wykazują zdolność do kumulowania się w organach, a nawet przenikania bariery-krew mózg, wywoływania stresu oksydacyjnego i stanów zapalnych wywołujących liczne problemy zdrowotne organizmów żywych. Mimo coraz liczniejszych badań nad szkodliwością różnych nanomateriałów, w tym ZnO-NPs, ich dokładny mechanizm cytotoksyczności nie jest dokładnie poznany przez co, wciąż jeszcze brakuje oceny ryzyka związanej z ekspozycją na poszczególne nanomateriały. Współczesnym wyzwaniem jest zatem dokładne zweryfikowanie toksyczności stosowanych nanomateriałów i poznanie mechanizmu ich działania na organizmy żywe. W ten właśnie nurt badawczy wpisuje się tematyka badań realizowanych w ramach recenzowanej pracy doktorskiej.

Praca doktorska mgr Agnieszki Czyżowskiej wykonana została w Katedrze Biochemii i Biofizyki Instytutu Biologii Wydziału Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie pod kierunkiem Pani dr hab. Anny Barbasz, prof. UP. Rozprawa doktorska stanowi podsumowanie wyników badań Autorki opublikowanych w pięciu artykułach w wysokoindeksowych czasopismach z listy *Journal Citation Reports: Journal of Environmental Health Research* (1 publikacja), *Acta Biochimica Polonica* (1 publikacja) i *Journal of Applied Toxicology* (3 publikacje), w których Pani mgr A. Czyżowska była pierwszym autorem. Załączone prace poprzedzone zostały przewodnikiem, który stanowi dobre wprowadzenie do wyników badań opublikowanych w poszczególnych artykułach.

W tej części pracy Autorka zawarła streszczenie pracy w języku polskim i angielskim, wprowadzenie do tematyki badań, przedstawiła szczegółowe cele badań, omówiła stosowane materiały i scharakteryzowała wykorzystywane techniki badawcze. W dalszych rozdziałach tej części rozprawy przedstawione zostało omówienie wyników badań własnych Autorki zawartych w artykułach stanowiących cykl tematycznie spójnych publikacji będących podstawą procedury doktorskiej. Wyniki badań zawarte w poszczególnych artykułach i płynące z nich wnioski Autorka zebrała w podsumowaniu opatrzonym tytułem *Główne wnioski*.

Liczące 36 stron wprowadzenie literaturowe i omówienie wyników przygotowane zostało w oparciu o 75 publikacji naukowych z czego przeważającą część stanowią prace, które ukazały się w ostatnim dziesięcioleciu. Prezentowane w tej części pracy zagadnienia zostały jasno i wyczerpująco omówione, co pozwala mi stwierdzić, że Doktorantka posiada dobrą znajomość aktualnego stanu wiedzy w obszarze związanym z tematyką badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej. Należy podkreślić, że wybór i kolejność zagadnień zaprezentowanych przez Autorkę w tej części pracy doktorskiej stanowi logiczną całość, a także uzasadnia wartość naukową i aktualność podjętych badań.

Uwagę zwraca bardzo przejrzysty sposób w jaki Autorka omówiła załączone publikacje, co znacznie ułatwia ich analizę. Warto również podkreślić dużą ilość technik badawczych zastosowanych przez Autorkę pracy jak również Jej umiejętność prawidłowego planowania eksperymentów, dzięki czemu Autorce udało się uzyskać szczegółowy wgląd w oddziaływanie nanocząstek tlenku cynku z komórkami eukariotycznymi, a także z lipidowymi składnikami biomembran. W tym miejscu chciałbym zaznaczyć, że wyniki otrzymane w ramach niniejszej pracy doktorskiej w znacznym stopniu poszerzają wiedzę w zakresie oceny cytotoksyczności nanocząstek ZnO, jak również dają głębszy wgląd w mechanizm ich oddziaływań z membranami komórkowymi.

Do najważniejszych osiągnięć doktorantki zaliczyłbym:

1. Wyjaśnienie mechanizmu toksycznego działania ZnO-NPs na komórki ludzkiego układu odpornościowego.
2. Wykazanie różnic w mechanizmie toksyczności ZnO-NPs względem ludzkich i mysich komórek czerniaka.
3. Ocenę toksycznego działania nanocząstek ZnO na rośliny uprawne (pszenicę zwyczajną) w zależności od wrażliwości roślin na stres środowiskowy.
4. Wykazanie braku korelacji pomiędzy stężeniem jonów cynku powstałych na skutek roztwarzania nanocząstek ZnO a ich cytotoksycznością.
5. Wyjaśnienie związku pomiędzy toksycznością ZnO-NPs a składem i strukturą modelowych błon komórkowych.

Pragnę podkreślić, że Autorka rozprawy zrealizowała wszystkie założone cele badawcze. Co więcej, wyniki otrzymane na podstawie dobrze zaplanowanych i rzetelnie wykonanych eksperymentów zostały wnikliwie i prawidłowo zinterpretowane w oparciu o dobrze dobraną aktualną literaturę naukową.

W trakcie lektury pracy napotkałem niewiele miejsc, w których, mógłbym zaproponować modyfikacje lub sformułować uwagi polemiczne np.:

1. Na stronie 22 przewodnika, Autorka napisała: „...wyposażoną w płytkę Wilhelm’iego, jako element stały na który wynoszone były cząsteczki lipidów...”. To sformułowanie nie jest poprawne, gdyż płytka Wilhelmy’ego jest częścią urządzenia (tensjometru) służącego pomiarom napięcia powierzchniowego (lub w tym przypadku ciśnienie powierzchniowego, czyli jego zmiany w stosunku do czystej napięcia powierzchniowego czystej subfazy). Zmiany ciśnienia powierzchniowego wynikają z gęstości upakowania cząsteczek na subfazie w trakcie kompresji monowarstwy, a nie ich wynoszeniem na podłoże stałe – do tego służy technika Langmuir-Blodgett. Dodatkowo zapis: „technika Langmuir’a” lub „waga Langmuir’a” jest niezgodny z zasadami stosowania apostrofów w języku polskim. Ponieważ nazwisko Langmuir kończy się na spółgłoskę to prawidłowym zapisem będzie np.: technika Langmuira. Podobnie nieprawidłowy jest zapis płytkę Wilhelm’iego – oryginalne nazwisko to Wilhelmy więc należy zapisać płytka „Wilhelmy’ego”.
2. Na stronie 23 zapisano wyrażenie na moduł ściśliwości. Warto byłoby podać, że równanie to jest słuszne w danych warunkach izotermiczno-izobarycznych.

W trakcie czytania przedłożonej mi do recenzji pracy zrodziły mi się pewne pytania, z których najistotniejsze przedstawię poniżej:

1. W jakim programie obliczono wartości C_S^{-1} – ile punktów izotermy π -A uwzględniano?
2. W ramach badań zaprezentowanych w artykule A4, Autorka obliczała namiarową entalpię swobodną mieszania dla monowarstw wieloskładnikowych i na tej podstawie wnioskuje o sile oddziaływań modelowych membran z nanocząstkami. Czy taka interpretacja jest zasadna?
3. Dlaczego do badań wybrano linie komórkowe czerniaka mysiego i ludzkiego?

Chciałbym, w tym miejscu zaznaczyć, że powyższe uwagi, mają charakter polemiczny i nie wpływają na bardzo pozytywną ocenę całej pracy. W mojej ocenie praca doktorska Pani mgr Agnieszki Czyżowskiej pt. „*Biochemiczno-biofizyczne aspekty cytotoksycznego działania nanocząstek tlenku cynku*” spełnia wszystkie kryteria określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018, poz.1668 z późn. zm.), w związku z czym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Pedagogicznego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę dużą wartość naukową uzyskanych wyników, które zostały w opublikowane w postaci 5 artykułów naukowych w uznanych specjalistycznych czasopismach naukowych wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie niniejszej pracy doktorskiej.