

Katowice, 24.02.2018 r.

prof. dr hab. Grażyna A. Płaza
Zespół Mikrobiologii Środowiska
Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych
Katowice

RECENZJA

Pracy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Zawadzkiej

**pt.: „Mikrobiologiczna degradacja wybranych związków N-heterocyklicznych
o działaniu farmakologicznym”**

**(Promotor: prof. dr hab. Katarzyna Lisowska – Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii
i Ochrony Środowiska)**

1. Ocena problematyki badawczej rozprawy

Recenzowana praca doktorska mgr Katarzyny Zawadzkiej dotyczy badań nad degradacją karbazolu (dibenzopyrol, 9-azofluoren) i jego farmakologicznie aktywnej pochodnej – karwedilolu. Głównym celem badań Doktorantki było określenie mikrobiologicznej degradacji karbazolu i karwedilolu przez mikroskopowe grzyby strzępkowe, określenie toksyczności tych związków oraz metabolitów powstających podczas ich biodegradacji oraz ocena wpływu tych związków na wybrane organizmy, ze szczególnym uwzględnieniem ich wpływu na skład fosfolipidów błony komórkowej.

Karbazol jest toksycznym trójpierścieniowym związkiem N-heterocyklicznym. Związki heterocykliczne zawierające w swoich strukturach atomy siarki, azotu i/lub tlenu, zaliczane są do jednych z najbardziej toksycznych zanieczyszczeń środowiska naturalnego. Współczesne doniesienia literaturowe opisują występowanie karbazolu w próbkach powietrza, wód oraz osadów dennych. Procesy bakteryjnej degradacji karbazolu opisano w literaturze, natomiast brak jest doniesień naukowych na temat biodegradacji tego związku i jego farmakologicznie aktywnych pochodnych takich jak karwedilol. Karwedilol to lek nowej generacji z grupy β -adrenolityków wykazujący działanie antagonistyczne wobec

receptorów β_1 , β_2 i α_1 (należy do grupy tzw. β blokerów) i używany jest m.in. w leczeniu nadciśnienia.

W przypadku karwedilolu, brak jest doniesień na temat metabolizmu tego związku zarówno przez mikroskopowe grzyby strzępkowe i bakterie. Odpowiadając na to wyzwanie, Doktorantka, w niniejszej pracy, dokonała również oceny zdolności mikroskopowych grzybów strzępkowych, wcześniej zaklasyfikowanych jako szczepy degradujące karbazol, do biotransformacji wybranego β -blokera.

Podjęte badania umożliwiły pozyskanie nowej wiedzy naukowej na temat zdolności mikroskopowych grzybów strzępkowych do biotransformacji karbazolu i jego farmakologicznie aktywnych pochodnych, poznanie szlaków mikrobiologicznej degradacji badanych związków, toksyczności tych związków i ich metabolitów biotransformacji oraz ich wpływu na zmiany składu błon komórkowych (głównie fosfolipidów) mikroskopowych grzybów strzępkowych i bakterii. Doktorantce, po raz pierwszy, udało się zidentyfikować metaboliczne (10 metabolitów pośrednich) i enzymatyczne (udział cytochromu P450 i reduktazy cytochromu P450) aspekty biotransformacji karwedilolu.

Biorąc pod uwagę powyższe względy, a także aktualne trendy w mikrobiologii środowiskowej, uważam podjęcie, przez Panią mgr Katarzynę Zawadzką badań ukierunkowanych na tą problematykę, za celowe i w pełni uzasadnione.

2. Formalna ocena rozprawy

W skład przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej wchodzi spójny tematycznie zbiór czterech publikacji:

- P1 – **Zawadzka K.**, Bernat P., Felczak A., Lisowska K. (2015) Carbazole hydroxylation by the filamentous fungi of the *Cunninghamella* species. *Environ. Sc. Poll. Res.* 22(24), 19658-66 (IF=2,760; MNiSW=30)
- P2 – **Zawadzka K.**, Bernat P., Felczak A., Lisowska K. (2017) Microbial detoxification of carvedilol, a β -adrenergic antagonist, by the filamentous fungus *Cunninghamella echinulata*. *Chemosphere* 183, 18-26. (IF=4, 208' MNiSW=35)
- P3 – **Zawadzka K.**, Felczak A., Szemraj J., Lisowska K. (2018) Novel metabolites from *Cunninghamella elegans* as a microbial model of the β -blocker carvedilol

biotransformation in the environment. Int. Biodeter. Biodegrad. 127, 227-235. (IF=2,962; MNiSW=30)

- P4 – **Zawadzka K.**, Bernat P., Felczak A., Różalska S., Lisowska K. (2018) Antibacterial activity of high concentrations of carvedilol against Gram-positive and Gram-negative bacteria. J. Antibacterial Ag. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.12.014. (IF=4,307, MNiSW=40)

Sumaryczny IF dla publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 14,237 (IF –letni: 14,920), natomiast sumaryczna liczba punktów MNiSW to 135 punktów. Wszystkie publikacje są na liście A MNiSW. Doktorantka we wszystkich publikacjach jest pierwszym autorem, Z przedstawionych oświadczeń Doktorantki i współautorów wynika, iż Jej rola w przygotowaniu tych prac była wiodąca. Ponadto, z przedstawionych oświadczeń określających indywidualny wkład Doktorantki wynika, że miała Ona wiodący udział w opracowaniu koncepcji każdej z prac, wykonaniu doświadczeń, analizie wyników oraz w opracowaniu wszystkich manuskryptów i edycji prac. Procentowy udział Doktorantki w wyżej wymienionych publikacjach wynosił 75-80%.

Publikacje umieszczone w rozprawie doktorskiej objęto wspólnym tytułem „*Mikrobiologiczna degradacja wybranych związków N-heterocyklicznych o działaniu farmakologicznym*”, a pracy, złożonej z XII rozdziałów, nadano strukturę obejmującą: źródła finansowania (I), wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej (II), wykaz pozostałych publikacji stanowiących dorobek naukowy Doktorantki (III), streszczenie w j. polskim i angielskim (Iv i V), wprowadzenie (VI), cel pracy (VII), metodologia badań (VIII), omówienie wyników (IX), podsumowanie i stwierdzenia końcowe (X), literatura uzupełniająca (XI) oraz oświadczenia Doktoranta i współautorów (XII). Praca w takim układzie liczy 89 strony. Tytuł ocenianej pracy doktorskiej jest precyzyjny i w pełni odpowiada jej treści, którą stanowi cykl powiązanych tematycznie, wymienionych powyżej, czterech publikacji naukowych.

3. Merytoryczna ocena pracy

Praca koncentruje się na następujących aspektach naukowych:

- ocenie zdolności 20 wybranych szczepów mikroskopowych grzybów strzępkowych wyizolowanych m.in. ze środowisk silnie zanieczyszczonych różnymi ksenobiotykami pod względem ich tolerancji wobec wysokich stężeń karbazolu i karwedilolu oraz efektywności ich degradacji;
- analizie biodegradacji przez wybrane grzyby strzępkowe wraz z identyfikacją metabolitów pośrednich szlaków degradacji karwedilolu - zaproponowaniu szlaków rozkładu badanych związków;
- określeniu toksyczności badanych związków i produktów pośrednich ich rozkładu poprzez zastosowanie testów komercyjnych toksyczności ostrej;
- badanie profilu fosfolipidów błon komórkowych mikroskopowych grzybów strzępkowych i bakterii;
- badanie enzymatycznych aspektów biotransformacji karwedilolu.

W pracy Autorka zaprezentowała badania podstawowe o charakterze interdyscyplinarnym z zakresu biologii, biologii molekularnej, mikrobiologii, toksykologii, ekotoksykologii oraz chemii. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Autorka w swoich badaniach wykorzystwała wiedzę i warsztat badawczy z różnych dziedzin. Zastosowanie przez Doktorantkę różnych metod badawczych świadczy o szerokim Jej spojrzeniu na zagadnienie biodegradacji wybranych związków i jego wielowątkowości, co należy docenić w pracy naukowej. Innym aspektem, na który należy również zwrócić szczególną uwagę jest zastosowanie szerokiej i dokładnej analizy chemicznej metabolitów pośrednich powstałych podczas degradacji wraz z ich interpretacją (określeniem struktury chemicznej) oraz enzymatycznym aspektami biotransformacji.

Omówienie dotychczasowego stanu wiedzy w temacie rozprawy, zebrane we Wprowadzeniu jest ciekawe, wyczerpujące i wnikliwe, oparte na literaturze z ostatnich lat. Ta część pracy obejmuje omówienie degradacji karbazolu przez bakterie oraz występowanie badanych związków w środowisku i ich wpływ na organizmy żywe. Wnikliwa analiza literatury pozwoliła Doktorantce na znalezienie obszarów naukowych nie zbadanych w danym temacie.

Cel badań i ich zakres został sformułowany w sposób precyzyjny i logiczny. W części „Metodologia badań” przedstawiono techniki wykorzystywane podczas realizacji pracy doktorskiej oraz do jakich badań zostały użyte. Doktorantka wykorzystwała w swoich badaniach zaawansowane techniki molekularne jak izolacja RNA, synteza cDNA i ilościowa analiza genów (RT-PCR) oraz technik chromatografii (GC-MS, LC-MS/MS). Ich szczegółowy opis przedstawiano w publikacjach wchodzących w cykl prac tworzących pracę doktorską.

W rozdziałach IX i X (Omówienie wyników oraz Podsumowanie i stwierdzenia końcowe), liczących 50 stron, Doktorantka opisała w sposób syntetyczny wyniki badań uzyskane i szczegółowo przedstawione w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej załączone do tego rozdziału. Opis wyników jest przedstawiony w sposób logiczny i stanowi bardzo dobre wprowadzenie do kolejnych rozdziałów, nakreślając jednocześnie spójność poszczególnych prac wchodzących w skład rozprawy. Tak zaplanowane badania umożliwiły Doktorantce uzyskanie odpowiednich wyników oraz ich opublikowanie w czasopiśmie z list A MNiSW

Ilość i jakość zaplanowanych i przeprowadzonych badań w pracy świadczy o opanowaniu przez Doktorantkę w stopniu bardzo dobrym warsztatu pracy doświadczalnej oraz umiejętności samodzielnego myślenia.

Uzyskane przez Doktorantkę rezultaty stanowią cenny wkład w badania nad biodegradacją wybranych ksenobiotyków.

Dokonując oceny pracy doktorskiej przedstawionej w formie cyklu publikacji stwierdzam, że teść pracy odpowiada jej tytułowi i sformułowanym na początku pracy celom. Analiza otrzymanych w trakcie badań wyników pozwoliła na wysunięcie odpowiednich wniosków i opublikowanie ich w renomowanych czasopiśmie naukowych.

WNIOSEK KOŃCOWY

Na podstawie recenzowanej pracy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Zawadzkiej pt.: „*Mikrobiologiczna degradacja wybranych związków N-heterocyklicznych o działaniu farmakologicznym*” stawiam wniosek o przyjęcie przez Radę Naukową Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego pracy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Zawadzkiej i dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Przedstawiona do oceny rozprawa w pełni odpowiada warunkom stawianym dysertacjom doktorskim.

Doktorantka spełnia wymagania przewidziane w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DzURP nr 65, poz. 595).

Uwzględniając nowatorskie idee i koncepcje badawcze, warsztat badawczy zastosowany w pracy oraz bardzo dobry dorobek naukowy (znacznie powyżej poziomu wymaganego dla doktoratów !) o czym świadczą zamieszczone również pozostałe publikacja stanowiące dorobek naukowy Doktorantki oraz niektóre wskaźniki bibliometryczne według Web of Science (dane z dnia 26.02.2018): ilość indeksowanych prac: 12; indeks H: 6, liczba cytowań (bez autocytowań): 115 (109); łączna wartość punktów MNiSW: 410 pkt, łączna wartość IF: 38,464), występuję do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego o wyróżnienie zarówno recenzowanej pracy doktorskiej, jak i Doktorantki stosowną nagrodą.

