



KNO

Krajowy Naukowy
Ośrodek Wiodący

Katedra i Zakład Biologii
i Botaniki Farmaceutycznej

Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Gdański Uniwersytet Medyczny
Al. Gen. J. Hallera 107
80-416 Gdańsk

tel. (58) 349 32 10, fax. (58) 349 32 11, e-mail: pharmbot@gumed.edu.pl

Prof. dr hab. J. Renata Ochocka

Ocena dorobku naukowego, rozprawy habilitacyjnej, pracy dydaktycznej, oraz działalności organizacyjnej dr Łukasza Kuźmy, adiunkta w Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutycznego w Łodzi

Ocena ta dokonana została zgodnie z pismem Dziekana Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, prof. dr hab. Darii Orszulak –Michalak, nr DF 203/2016 z dnia 23.11.2016, a także zgodnie z wymogami aktualnie obowiązującego prawa (*Ustawa o stopniach naukowych i o tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku, Dziennik Ustaw Nr 65, poz. 595, z późn. zm.*), przywoływana dalej w tekście oceny skrótowym określeniem Ustawa.

Informacje ogólne

Dr Łukasz Kuźma ukończył studia na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytetu Medycznego) w Łodzi, uzyskując stopień **magistra farmacji** w roku 2002.

Dyplom **doktora nauk farmaceutycznych** uzyskał w roku 2006 na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi na podstawie rozprawy doktorskiej: „Wytwarzanie diterpenów w kulturach organów niezmienionych i zmienionych genetycznie *Salvia sclarea* L.” (Promotor: prof. dr hab. n. farm. Halina Wysokińska).

Habilitant pracę naukową rozpoczął w roku 2006 w Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, na Wydziale Farmaceutycznym, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kolejno na stanowiskach: asystenta do roku 2008 i do chwili obecnej adiunkta.

OCENA DOROBKU NAUKOWEGO I DZIAŁALNOŚCI BADAWCZEJ

Analiza bibliometryczna.

Dr Łukasz Kuźma wg znajdującej się w dokumentacji analizy bibliometrycznej wykonanej przez Oddział Bibliografii i Bibliometrii Centrum Informacyjno - Bibliotecznego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi jest autorem 29 oryginalnych prac naukowych (25 w czasopiśmie z IF, 4 prace w czasopiśmie bez IF). Zestaw uzupełniają 22 streszczenia ze zjazdów (8 zjazdy międzynarodowe, 14 zjazdy krajowe).

W skład rozprawy habilitacyjnej " Korzenie transformowane *Salvia austriaca* Jacq. jako źródło biologicznie aktywnych diterpenów" wchodzi 7 prac pełnotekstowych (IF=12.307)

Łączny współczynnik oddziaływania (*Impact Factor*) wynosi 42,299, a suma punktów KBN/MNiSW – 569 Publikacje Łukasza Kuźmy były cytowane według bazy Web of Science (WoS) 222 razy (bez autocytowań). Indeks Hirsha (*h-index*) wynosi 9 (stan na dzień 13.09.2016).

Przedstawione dane, wartość IF, wartość indeksu Hirsha **wskazują na znaczący dorobek Habilitanta.**

Ocena dorobku naukowego

Tematyka prowadzonych prac naukowych Habilitanta, od pierwszego okresu pracy w Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, związana była z biotechnologią roślin. Zakres prowadzonych przez Habilitanta prac obejmował szeroki zakres badań. Dr Kuźma zajmował się kulturami komórkowymi *in vitro*, kulturami pędów i korzeni transformowanych oraz izolacją i identyfikacją różnego typu biologicznie czynnych metabolitów wtórnych, głównie z grupy diterpenów. Badania obejmowały prace nad zwiększaniem poziomu metabolitów wtórnych: w kulturach korzeni transformowanych i kulturach zawieszinowych *S. sclarea* oraz kulturach pędów *S. nemorosa*. Habilitant prowadził również badania aktywności biologicznej izolowanych metabolitów. Z tego okresu pochodzą prace opublikowane w czasopiśmie: *Herba Polonica*, *Plant Cell Tissue and Organ Culture* i *Zeitschrift Für Naturforschung C*.

W późniejszym okresie, po obronie doktoratu, Habilitant kontynuował badania biotechnologiczne i biologiczne z kulturą korzeni transformowanych i z kulturami pędów *S. sclarea*. Równoległe z pracami biotechnologicznymi dr Kuźma prowadził badania fitochemiczne. Wyniki tych badań zostały opublikowane w *Zeitschrift Für Naturforschung C* (2008), w *Enzyme and Microbial Technology* (2009) i w *Molecules* (2009).

Oprócz badań biotechnologicznych i fitochemicznych Habilitant prowadził w szerokim zakresie badania biologiczne, obejmujące badania aktywności biologicznej ekstraktów i izolowanych metabolitów wtórnych z grupy abietanowych diterpenów, badania aktywności cytotoksycz-

nej, aktywności przeciwbakteryjnej, synergistycznego działania z antybiotykami wobec chorobotwórczych antybiotykoopornych szczepów gronkowcowych (*S. aureus* i *S. epidermidis*), jak również badania aktywności przeciwprzeczniakowej. Efektem tych badań były prace opublikowane w *Phytomedicine* (2007), w *Planta Medica* (2007) i w *Parasitology Research* (2015). Badania biotechnologiczne prowadzone przez Habilitanta obejmowały również hodowle kultur korzeni transformowanych *Rindera graeca* oraz *Taxus x media* var. *Hicksii*.

W dorobku dr Kuźmy należy podkreślić szeroki zakres Jego zainteresowań naukowych. Oprócz prowadzonych na wysokim poziomie prac biotechnologicznych, rozwijał metody badań chromatograficznych i metody oznaczeń różnego typu metabolitów wtórnych. Należy wysoko ocenić ten obszar prowadzonych prac i opracowanie metod oznaczania wielu grup związków, z wykorzystaniem metody UHPLC.

Habilitant prowadził oznaczenia zawartości w badanych materiałach m.in. bajkaliny, wogonozydu i werbaskozydu w kulturze kalusowej i kulturze pędów *Scutellaria altissima*, Znajduje to odzwierciedlenie w publikowanych pracach: *Journal of Medicinal Plant Research*, (2013), *Acta Physiologiae Plantarum* (2015). Habilitant prowadził również oznaczenia zawartości: 20-hydroksy-ekdyzonu i kwasu chlorogenowego w pędach *Rhaponticum carthamoides* (*Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2015); oznaczania zawartości irydoidów (aukubiny, katalpolu, katalpozydu, loganiny, harpagidu i harpagozydu) w materiale z *Rehmannia glutinosa* i *Rehmannia elata* (*Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2015a, *ActaPoloniae Pharmaceutica*, 2015; *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2015 b).

Przedmiotem badań habilitanta były też oznaczenia ginsenozydów w kulturze korzeni transformowanych *Panax quinquefolium* (*Acta Physiologiae Plantarum*, 2016) oraz oznaczanie zawartości kwasu ursolowego i oleanolowego w liściach *Arctostaphylos uvaursi*, *Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium vitis idaea* i *Gaultheria procumbens* (*Applied Sciences*, 2016).

Po analizie dorobku Habilitanta stwierdzam, że wszystkie publikacje świadczą o umiejętności prowadzenia badań naukowych, a zakres tematów wskazuje na dużą inwencję, pracowitość i bardzo dobre opanowanie warsztatu naukowego przez dr Łukasza Kuźmę.

Wyrazem uznania dla dorobku naukowego dr Łukasza Kuźmy były nagrody Rektora UM w Łodzi za osiągnięcia naukowe. Habilitant otrzymał w 2007 roku, indywidualną Nagrodę Naukową oraz w 2013 roku Nagrodę Naukową Zespołową Stopnia za cykl publikacji (IF 6,122): „Biologicznie aktywne diterpeny w kulturze korzeni transformowanych *Salvia austriaca* Jacq.”.

Uznanie międzynarodowej społeczności specjalistów, dokumentują zaproszenia dr Ł. Kuźmy do recenzowania prac nadsyłanych do publikacji w dobrych czasopismach z *Impact Factor*, takich jak: *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, *Molecules*, *Jo-*

urnal of Pharmacy and Pharmacology, African Journal of Pharmacy and Pharmacology, African Journal of Microbiology Research, African Journal of Biotechnology, Process Biochemistry. Annals of Agricultural and Environmental Medicine.

Habilitant uczestniczył jako wykonawca w dwóch grantach MNiSW/NCN, w latach 2007-2013 "Wybrane rośliny lecznicze z rodziny Boraginaceae jako źródło naftochinonów – badania biotechnologiczne, fitochemiczne i biologiczne" i w latach 2009-2014 w projekcie " Wytwarzanie taksanów i innych związków w organach transformowanych *Taxus x media var. Hick-sii* z hodowli *in vitro*".

OCENA ROZPRAWY HABILITACYJNEJ

Podstawę pracy habilitacyjnej zatytułowanej "**Korzenie transformowane *Salvia austriaca* Jacq. jako źródło biologicznie aktywnych diterpenów**" stanowi siedem współautorskich publikacji:

1. **Kuźma Ł.**, Kisiel W., Królicka A., Wysokińska H. "Genetic transformation of *Salvia austriaca* by *Agrobacterium rhizogenes* and diterpenoid isolation". Die Pharmazie 2011, 66,904-907.
2. **Kuźma Ł.**, Wysokińska H., Różalski M., Krajewska U., Kisiel W. „An unusual taxodione derivative from hairy roots of *Salvia austriaca*". Fitoterapia 2012, 83, 770-773.
3. **Kuźma Ł.**, Wysokińska H., Różalski M., Budzyńska A., Więckowska-Szakiel M., Sadowska B., Paszkiewicz M., Kisiel W., Różalska B. „Antimicrobial and anti-biofilm properties of new taxodione derivative from hairy roots of *Salvia austriaca*". Phytomedicine 2012, 19, 1285-1287.
4. **Kuźma Ł.**, Wysokińska H. „UPLC-DAD Determination of taxodione content in hairy roots of *Salvia austriaca* Jacq.” Acta Chromatographica 2014, 26, 671-681.
5. **Kuźma Ł.**, Wysokińska H., Sikora J., Olszewska P., Mikiciuk - Olasik E., Szymański P. "Taxodione and extracts from *Salvia austriaca* roots as human cholinesterase inhibitors". Phytotherapy Research 2016, 30, 234-242.
6. Sadowska B., **Kuźma Ł.**, Mícota B., Budzyńska A., Wysokińska H., Kłys A., Więckowska-Szakiel M., Różalska B. "New biological potential of abietane diterpenoids isolated from *Salvia austriaca* against microbial virulence factors". Microbial Pathogenesis 2016, 98, 132-139.
7. **Kuźma Ł.**, Kaiser M., Wysokińska H. „The production and anti-protozoal activity of abietane diterpenes in *Salvia austriaca* hairy roots grown in shake-flasks and bioreactor". Preparative Biochemistry and Biotechnology 2016, DOI10.1080/10826068.2016.1168745.

Publikacje będące przedmiotem rozprawy, gdy skierowano je do redakcji czasopism naukowych, były poddane szczegółowej ocenie recenzentów - specjalistów z wielu dziedzin. Prace zostały opublikowane w dobrych czasopismach, których zespoły redakcyjne są rękojmią wysokiego poziomu naukowego publikowanych wyników oraz ich oryginalności.

W załączonej dokumentacji znajdują się wszystkie powyższe, współautorskie publikacje. W sześciu pracach dr Ł. Kuźma jest pierwszym autorem, w jednej - drugim. Habilitant przedstawił oświadczenia wszystkich współautorów, wskazujące na Jego wiodącą rolę w przygotowaniu publikacji. Potwierdzają to również oświadczenia Habilitanta, z których wynika, że poza publikacją H-3 (udział 60%) i publikacją H-6 (udział 40%) we wszystkich pozostałych

Jego udział procentowy w przygotowaniu wynosił od 70% do 80%. W czterech publikacjach dr Łukasz Kuźma jest autorem korespondencyjnym.

W dużych pracach badawczych, a do takich należy rozprawa habilitacyjna, szczególną uwagę zwraca cel i uzasadnienie podejmowanych badań. Dr Ł. Kuźma sformułował cele pracy jasno i precyzyjnie. Zaplanowane badania dotyczyły:

- otrzymania kultury korzeni *Salvia austriaca* w wyniku transformacji szczepem A4 *Agrobacterium rhizogenes*
- poznania ich możliwości do wytwarzania diterpenów abietanowych
- badań aktywności biologicznej ekstraktów i diterpenów wyizolowanych z hodowanych *in vitro* kultur.

W opisie celów cząstkowych Autor wymienia selekcję linii kultury korzeni transformowanych *S. austriaca*, charakteryzującej się wysokim przyrostem biomasy, izolację i identyfikację diterpenów w kulturze korzeni transformowanych *S. austriaca*, określenie zawartości diterpenów w kulturze korzeni transformowanych *S. austriaca* oraz porównanie z zawartością tych związków w korzeniach nietransformowanych rośliny rosnącej w gruncie. Założone badania obejmowały również badania aktywności wyizolowanych z korzeni *S. austriaca* diterpenów pod kątem działania cytotoksycznego, przeciwbakteryjnego, przeciwpierwotniakowego i zdolności do inhibicji acetylo- i butyrylocholinoesterazy.

Wybór tematu i podjęte badania są w pełni uzasadnione, gdyż istnieje duże zainteresowanie związkami z grupy diterpenów o cennych właściwościach i aktywności biologicznej. Wybór gatunku *S. austriaca*, uzasadniają wyniki badań wskazujące na występowanie diterpenów w rodzaju *Salvia*, a prowadzone kultury organowe w tym kultury korzeni, mogą być wydajnym źródłem tych związków. Ponadto, mimo badań w wielu ośrodkach naukowych, dane współczesnego piśmiennictwa, wskazują, że stan istniejącej wiedzy na temat tej grupy związków, jest ciągle niewystarczający.

Przeanalizowawszy treść wszystkich siedmiu publikacji, przedłożonych jako habilitacja oraz zapoznawszy się z omówieniem tych publikacji, opracowanym przez Autora jestem zdania, **że badania dr Kuźmy znacząco wzbogaciły wiedzę na temat występowania i zawartości związków diterpenowych w *S. austriaca*.**

Przed uzyskaniem satysfakcjonujących wyników konieczne było opracowanie warunków otrzymywania korzeni transformowanych *Salvia austriaca* i warunków ich wzrostu w kulturze *in vitro*, co opisują **publikacje nr 1 i nr 7**. Autor przedstawił w publikowanych pracach rozległe spektrum rozwiązań w procedurach biotechnologicznych, prowadzących do otrzymania kultur korzeniowych o najlepszych parametrach. **Habilitant po raz pierwszy** uzyskał kulturę korzeni transformowanych *Salvia austriaca*, po transformacji *Agrobacterium rhizogenes* (szczep A4).

W wyniku prowadzonych w szerokim zakresie badań cytotoksyczności taksodionu i jego pochodnej - 7-(2'-oksoheksylo)-taksodionu, podjęcie których uzasadniały dane piśmiennictwa, Habilitant **uzyskał bardzo wartościowe wyniki**. Autor wykazał, że zidentyfikowany przez Niego związek 7-(2'-oksoheksylo)-taksodion, **nieopisany w piśmiennictwie i nieznan wcześniej z występowania w naturze (Publ. nr 2), wykazuje znaczną cytotoksyczność** w stosunku do badanych linii komórek nowotworowych (białaczki szpikowej (HL-60), białaczki limfoblastycznej (NALM-6), czerniaka (WM-115), przy niskiej cytotoksyczności wobec komórek nienowotworowych, komórek normalnych śródbłonna żyły pępowinowej (HUVEC). Wyniki te wskazują na celowość dalszych badań działania przeciwnowotworowego nowo poznanego związku.

Interesujące i bardzo wartościowe są wyniki badań Habilitanta dotyczące oceny zdolności taksodionu i *n*-heksanowych ekstraktów z korzeni *S. austriaca* do inhibicji acetylo- i butyrylocholinoesterazy, wraz z symulacją parametrów biologicznych taksodionu pod kątem genotoksyczności, kardiotoxyczności, przenikalności bariery krew-mózg i biodystrybucji (**Publ. nr 5**). Wyniki dotyczące **po raz pierwszy prowadzonych badań** aktywności taksodionu wobec enzymów: acetylo- i butyrylocholinoesterazy (AChE i BChE)), **dostarczyły ważnych informacji, które mogą być wykorzystane w dalszych badaniach w poszukiwaniu leków w chorobie Alzheimera**. **Istotne są wyniki** wskazujące na niską geno- i kardiotoxyczność taksodionu oraz jego bardzo dobrą przenikalność bariery krew-mózg i wysoką objętość biodystrybucji.

Badania Habilitanta **dostarczają ważnych wyników, dotyczących aktywności przeciwdrobnoustrojowej diterpenów abietanowych (Publ. nr 3, Publ. nr 6) i przeciwprzywrotnikowej (Publ. nr 7)**. Nowo poznany związek 7-(2'-oksoheksylo)-taksodion był bardzo skuteczny wobec antybiotykoopornych szczepów *S. aureus* (MRSA) i zmniejszał przeżywalność bakteryjnego biofilmu do 66%. Habilitant wykazał dużą aktywność taksodionu wobec *Trypanosoma brucei rhodesiense*.

Wyniki w publikacjach stanowiących pracę habilitacyjną dr Łukasza Kuźmy, stanowią rzeczywisty wkład w wiedzę o aktywności biologicznej diterpenów abietanowych.

Praca habilitacyjna dr Łukasza Kuźmy dobrze łączy ze sobą przedstawione publikacje w jeden logiczny cykl tematyczny. Stanowi ona **samodzielny i oryginalny dorobek Autora, który wykazał dużą znajomość przedmiotu oraz zdolność prowadzenia samodzielnych badań naukowych**. Habilitant jest ekspertem zarówno w dziedzinie biotechnologii i fitochemii, ale również z dużą znajomością rzeczy omawia bardzo ważne zagadnienia badań biologicznych.

Oceniana rozprawa habilitacyjna, **spełnia** ustawowy wymóg **wniesienia znaczącego wkładu** do uprawianej przez Autora dyscypliny naukowej. Przedstawione wyniki prac doświadczalnych stanowią trwały dorobek teoretyczny i **wkład w rozwój badań biotechnologicznych, fitochemicznych i biologicznych.**

OCENA PRACY DYDAKTYCZNEJ I DZIAŁALNOŚCI ORGANIZACYJNEJ.

Dr Łukasz Kuźma ma duże doświadczenie dydaktyczne. Od wielu lat prowadzi ćwiczenia z przedmiotów: „Biologia z genetyką” oraz „Botanika farmaceutyczna” dla studentów I roku Wydziału Farmaceutycznego, kierunku farmacja. Dr Kuźma prowadził również wykłady seminaria z przedmiotu: „Biologia z genetyką” dla studentów I roku Wydziału Farmaceutycznego kierunku farmacja oraz seminariów z tego przedmiotu dla kierunku kosmetologia. Habilitant sprawował opiekę nad 8 pracami magisterskimi. Jego praca dydaktyczna jest bardzo wysoko oceniana przez studentów w ankietach ewaluacyjnych.

Dr Kuźma jest zaangażowany w pracy na rzecz Wydziału i Uczelni. Pracował jako członek komisji „Brain” powołanej do opracowania projektu przebudowy gmachu Farmacji.

WNIOSEK KOŃCOWY

Biorąc pod uwagę dotychczasowy dorobek naukowy Habilitanta, dużą wartość pracy habilitacyjnej, działalność badawczą i doświadczenie dydaktyczne, stwierdzam, że dr n. farm. Łukasz Kuźma, zgodnie z obowiązującą Ustawą, spełnia kryteria stawiane osobom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego.

Dr n. farm. Łukasz Kuźma jest ekspertem w dziedzinie badań biotechnologicznych, fitochemicznych oraz badań aktywności biologicznej roślinnych metabolitów wtórnych. Dorobek naukowy Habilitanta upoważnia dr n. farm. Łukasza Kuźmę do ubiegania się o status samodzielnego pracownika nauki.

Przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie dr n. farm. Łukasza Kuźmę do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Gdańsk, 18.01.2017

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu
Biologii i Botaniki Farmaceutycznej
Zgodzonym
prof. dr hab. I. Ryszard Wróblewski