



Poznań, 13.07.2025

Dr hab. Małgorzata Słocińska, prof. UAM
Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt
Instytut Biologii Eksperymentalnej
Wydział Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza
Poznań

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Reyhaneh Seyed Alian
„Wpływ tlenu grafenu, nanocząstek srebra oraz kompozytu tlenu
grafenu
i nanocząstek srebra na funkcje pokarmowe *Acheta domesticus*”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Reyhaneh Seyed Alian wykonana została w Instytucie Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląski w Katowicach pod kierunkiem prof. dr hab. Marii Augustyniak. Celem pracy była ocena oddziaływania nanocząstek tlenu grafenu (GO), nanocząstek srebra (AgNPs) oraz kompozytu powstałego na bazie GO i AgNPs na funkcje pokarmowe, świerszcza domowego *Acheta domesticus* organizmu modelowego wykorzystywanego powszechnie w badaniach ekotoksykologicznych. Nanocząstki podawano w pokarmie w różnych stężeniach oraz czasie i badano ich oddziaływanie na wybrane parametry budżetu pokarmowego oraz aktywności enzymów trawiennych. Ponadto, określono również zależności między ekspozycją na badane nanocząstki a konsumpcją i asymilacją pokarmu, aktywnością enzymów trawiennych oraz stanem komórek jelita *A. domesticus*. Praca jest kontynuacją badań prowadzonych od wielu lat przez zespół prof. M. Augustyniak nad poznaniem mechanizmów działania nanocząstek takich jak pochodne grafenu czy nanocząstki srebra na organizmy żywe.

Nanocząstki ze względu na swoje unikalne właściwości fizykochemiczne, od lat 50 tych XX wieku (choć znane już w starożytności), znajdują coraz większe zastosowanie niemal we wszystkich dziedzinach życia, m.in. medycynie, elektronice czy przemyśle tekstylnym, spożywczym, kosmetycznym, motoryzacji i budownictwie. Mimo ich powszechnego i ciągle rosnącego wykorzystania, potencjalne uboczne skutki oraz mechanizmy ich działania, a zwłaszcza zakres bezpiecznych stężeń oraz efekt długotrwałej ekspozycji na środowisko, zwierzęta i człowieka, nadal nie są do końca poznane, dlatego podjęty przez Doktorantkę

problem naukowy posiada nie tylko wartość naukową, ale i aplikacyjną. Eksperymenty zostały przeprowadzone z wykorzystaniem prostych organizmów modelowych jakimi są owady, w warunkach *in vivo*, co pozwala w szerszym zakresie zrozumieć mechanizm wzajemnych interakcji między nanocząsteczkami, a komórkami i tkankami organizmu. Wyniki uzyskane podczas takich badań mogą stanowić pierwszy etap do planowania eksperymentów toksykologicznych na ssakach. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę na modelu zwierzęcym, świerszczu domowym *A. domesticus* wnoszą zatem nowe i wartościowe informacje na temat mechanizmów oddziaływania nanocząstek: tlenku grafenu i nanocząstek srebra oraz ich kompozytów na procesy fizjologiczne i biochemiczne zachodzące w żywym organizmie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Reyhaneh Seyed Alian stanowi spójny tematycznie zbiór 3 publikacji opublikowanych w wysoko punktowanych czasopismach w latach 2021-2025: *Science of Total Environment*, (IF: 8.2; MNiSW: 200 pkt.), *Insects* (IF: 2.7; MNiSW: 100 pkt.), *Scientific Reports* (IF: 3.8; MNiSW: 140 pkt.). Należy podkreślić, że w każdej z tych prac mgr Reyhaneh Seyed Alian jest pierwszym autorem. Opracowanie liczy 142 strony i podzielone jest na 3 główne części. Pierwsza z nich to: Informacje podstawowe dotyczące publikacji wchodzących w skład dysertacji i pozostałego dorobku Doktorantki, finansowania badań oraz udziału w konferencjach i szkoleniach. Druga część to dość obszerne wprowadzenie do tematyki rozprawy doktorskiej, jasno sformułowany cel badań i postawione hipotezy, opis metodyki wykorzystanej w realizacji pracy (szczegółowo opisanej w poszczególnych pracach), umiejętnie przeprowadzona dyskusja najważniejszych wyników, skonfrontowana z danymi dostępnymi w literaturze, konkluzje z nich wynikające oraz bibliografia (105 pozycji). Trzecia część to załączone kopie prac wchodzących w skład rozprawy oraz deklaracje współautorów dotyczące ich udziału w realizacji badań oraz powstawaniu manuskryptów. Dodatkowo, do publikacji 2 i 3 dołączono surowe dane jako „*supplementary material*”. W przedłożonej rozprawie znalazło się również streszczenie w języku polskim i angielskim.

Rozprawa została napisana w sposób przejrzysty i zrozumiały. Szata graficzna jest staranna. Na uwagę zasługuje przedstawienie na schemacie przeprowadzonych eksperymentów oraz otrzymanych w ramach doktoratu rezultatów (strona 31). Ryciny znajdujące się w publikacjach m.in. dotyczące hormezy jako zjawiska towarzyszącego ekspozycji na nanocząstki (Fig. 7, *Insects*) czy graficzne podsumowanie zaburzeń trawiennych wynikających z ekspozycji owadów na kompozyty GO-AgNP (Fig. 9, *SR*) są dodatkowym atutem zarówno publikacji jak i samej rozprawy doktorskiej.

W podjętych badaniach Doktorantka skupiła swoją uwagę na następujących zagadnieniach, które znalazły odzwierciedlenie w kolejnych pracach umieszczonych w dysertacji:

1. określenie budżetu energetycznego, ilości zjedzonego pokarmu oraz wydalonych odchodów, półilościowa analiza aktywności enzymów trawiennych oraz ewaluacja markerów statusu komórkowego po ekspozycji owadów na nanocząstki GO20 (20 $\mu\text{g/g}$), Ag400 (400 $\mu\text{g/g}$) oraz ich kompozyt GO20/Ag400 (20 $\mu\text{g/g}$ GO oraz 400 $\mu\text{g/g}$ AgNO) podawanych wraz z pokarmem przez 3, 6, 10 dni;
2. określenie budżetu energetycznego, szczegółowa analiza aktywności wybranych enzymów trawiennych oraz ewaluacja markerów statusu komórkowego po ekspozycji owadów na nanocząstki w różnych stężeniach GO2 (2 $\mu\text{g/g}$), GO20 (20 $\mu\text{g/g}$), GO200 (200 $\mu\text{g/g}$) oraz Ag4 (4 $\mu\text{g/g}$), Ag400 (400 $\mu\text{g/g}$), Ag4000 (4000 $\mu\text{g/g}$) podawanego z pokarmem przez okres 1, 2, 3, 4, 5, 15, 21 dni;
3. określenie budżetu pokarmowego, szczegółowa analiza aktywności wybranych enzymów trawiennych, ewaluacja markerów statusu komórkowego oraz analiza ultrastruktury nabłonka jelitowego po ekspozycji owadów na kompozyty nanocząstek w różnych stężeniach GO2Ag4 (2 $\mu\text{g/g}$ GO oraz 4 $\mu\text{g/g}$ AgNO), GO20Ag40 (20 $\mu\text{g/g}$ GO oraz 40 $\mu\text{g/g}$ AgNP), GO200Ag400 (200 $\mu\text{g/g}$ GO oraz 400 $\mu\text{g/g}$ AgNP), GO2000Ag4000 (2000 $\mu\text{g/g}$ GO oraz 4000 $\mu\text{g/g}$ AgNP), podawanych wraz z pokarmem przez okres 1, 5, 15, 21 dni.

Przeprowadzone badania zostały dobrze zaprojektowane, a Doktorantka musiała nabyć szereg umiejętności związanych z ich planowaniem oraz pracą w laboratorium tj. hodowla owadów, pobieranie tkanek, oznaczanie aktywności enzymów trawiennych, określanie budżetu energetycznego owadów, optymalizacja stosowanych metod czy analiza statystyczna. Załączone deklaracje Doktorantki jak i współautorów, wskazują również na Jej udział w tworzeniu koncepcji badań, analizie i interpretacji wyników czy przygotowywaniu manuskryptów do publikacji. Niemniej, w oświadczeniach przydatna byłaby informacja określająca procentowy udziału w poszczególnych pracach, które weszły w skład rozprawy.

Doktorantka prezentowała swoje wyniki na międzynarodowych konferencjach w Polsce i za granicą, odbyła liczne kursy w placówkach zagranicznych, a także uczestniczyła w wymianie studenckiej w ramach programu POWER w Polymer Institute of the Slovak Academy of Sciences w Bratysławie. Należy również podkreślić, że na swoje badania mgr Reynehał pozyskała fundusze z Narodowego Centrum Nauki, w konkursie Preludium (2022-2025). W trakcie trwania szkoły doktorskiej w latach 2020-2021 otrzymała nagrodę dla najlepszych

studentów SD. Na podkreślenie zasługuje także zaangażowanie Doktorantki w inne projekty, w efekcie realizacji, których powstały 3 publikacje (z tego dwie w prestiżowym czasopiśmie *Chemosphere*, IF=8, 140 pkt. MNiSW), których mgr Reyhaneh Seyed Alian jest współautorem.

Nawiązując do uzyskanych w pracy wyników chciałabym poprosić Doktorantkę o komentarz do następujących pytań:

- *Interesującym wnioskiem wynikającym z przeprowadzonych przez Doktorantkę badań jest fakt iż testowane nanocząstki grafenu oraz nanocząstki srebra mogą wywoływać hormezę, m.in. przez aktywację systemów obronnych *A. domesticus*. Jak zjawisko hormezy (przy założeniu, że występuje także u innych gatunków owadów) mogłoby wpłynąć na skuteczność stosowanych coraz powszechniej w ochronie roślin insektycydów opartych na nanotechnologii?*

- *Czy w przypadku przedostawania się do organizmu drogą pokarmową nanocząstki pozostają stabilne? W jakich miejscach w komórce/tkance lokalizują się? Czy w celu poznania lokalizacji w tkankach badanych nanocząstek, możliwe byłoby ich fluorescencyjne znakowanie a następnie podanie wraz z pokarmem?*

- *Czy nanocząstki wraz z pokarmem były podawane owadom codziennie, czy tylko raz (na początku eksperymentu) lub w określonych punktach czasowych?*

- *Czy w celu oznaczenia aktywności enzymatycznej półilościową metodą za pomocą testu API-ZYM (Science of Total Environment) do homogenizacji jelit używano jednego typu buforu o określonym pH, czy w celu optymalizacji aktywności określonych enzymów podawano bufony o różnym zakresie pH? Czy jelita pobrane do homogenizacji były wypełnione pokarmem czy wcześniej oczyszczane?*

- *Czy białko w homogenacie otrzymanym z jelit *A. domesticus* było również oznaczane? Czy brano pod uwagę przeliczenie względnej aktywności enzymów trawiennych (oznaczonych za pomocą testu API-ZYM), na mg białka lub mg tkanki?*

- *Czy mikrobiota zasiedlająca jelita oraz rodzaj pokarmu i pH będą wpływać na działanie nanocząsteczek i aktywność enzymów trawiennych?*

- *Na wykresach 8-12 w publikacji 2 (Insects) oraz wykresach 5-6 w publikacji 3 (Scientific Reports) widzimy, że aktywność enzymów trawiennych zmienia się w czasie i w wyniku działania różnych stężeń nanocząstek. Aktywności enzymów przedstawione są jednak w różnych jednostkach ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ lub Abs/min , units/L . Czy jest to zapis zamierzony? Czy*



ujednoczenie nie byłoby korzystniejsze dla porównania wpływu nanocząstek na aktywność enzymów trawiennych?

Podsumowując, w trakcie realizacji pracy mgr Reyhaneh Seyed Alian otrzymała oryginalne wyniki, zawierające elementy nowości naukowej i opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych, które poszerzają wiedzę na temat istotnych aspektów oddziaływania tlenku grafenu, nanocząstek srebra i ich kompozytów GO/AgNP na organizmy żywe. Przedstawiona praca doktorska wskazuje na umiejętność rozwiązywania postawionych przez Doktorantkę zadań naukowych i dyskusowania otrzymanych wyników, a także znajomość specjalistycznej literatury oraz opanowanie różnorodnych metod badawczych.

Rozprawą doktorską mgr Reyhaneh Seyed Alian oceniam pozytywnie, oraz uważam, że kandydatka wykazała niezbędną wiedzę i umiejętności do prowadzenia badań naukowych. Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478, 619, 1630) oraz wnioskuję o dopuszczenie mgr Reyhaneh Seyed Alian do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab., prof. UAM Małgorzata Słocińska