



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

## Katedra Farmakologii

Szczecin, 23.10.2022

### Evaluation of doctoral dissertation

presented by Suhanya Prasad MSc, entitled "Non-peptide mimics of antimicrobial peptides and their functionalized gold nanosystems to combat antibiotic resistance" supervised by prof. dr hab. Robert Bucki and dr hab. Krzysztof Fiedoruk from Department of Medical Microbiology and Nanobiomedical Engineering at the Medical University of Białystok, Poland.

The first resistant strains of bacteria are usually observed several years after the initial clinical use of antimicrobial agents, which limit the possibility of their subsequent effective use. The increasing prevalence of resistant strains contributes to reduced effectiveness of the available antibacterial therapies, thus affecting clinical prognosis of many patients with severe infections caused by multi-resistant bacterial strains. Therefore, in view of low probability of new antibacterial drugs introduction by the pharmaceutical industry, an important role is played by routine implementation of measures limiting the development of drug resistance, especially unjustified and inappropriate use of those drugs. It is estimated that around 400,000 infections and 25,000 deaths each year in Europe can be attributed to infections caused by bacteria that are resistant to a broad range of drugs, and among the most common causative pathogens are *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Among the above-mentioned pathogens is *Streptococcus pneumoniae*, which constitutes an object of scientific interest of the PhD student Suhanya Prasad. Therefore, the research topic focused by S. Prasad, MSc, should be considered fully up-to-date, dedicated to the search for new strategies for the prevention and treatment of bacterial infections, i.e. determination of the antibacterial activity of ceragenins (CSA 13, CSA-44 and CSA-131) and ceragenin-functionalized gold peanut shaped nanoparticles as well as defining potential resistance mechanisms of *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii*. It should also be emphasized that the hypothesis/assumptions of the doctoral dissertation were recognized by external experts, since the research being the basis for

the doctoral dissertation submitted for evaluation was financed from funds granted by the European Union under the Horizon 2020 framework program and the Ministry of Science and Higher Education.

The doctoral dissertation of Suhanya Prasad, MSc includes two papers published in renowned journals: original paper - Prasad SV, Piktel E, Depciuch J, Maximenko A, Suprewicz Ł, Daniluk T, Spałek J, Wnorowska U, M Zielinski P, Parlinska-Wojtan M, B Savage P, Okła S, Fiedoruk K, Bucki R. Targeting bacteria causing otitis media using nanosystems containing nonspherical gold nanoparticles and ceragenins. *Nanomedicine (Lond)*. 2021;16(30):2657-2678 and review paper - Prasad SV, Fiedoruk K, Daniluk T, Piktel E, Bucki R. Expression and Function of Host Defense Peptides at Inflammation Sites. *Int J Mol Sci*. 2019;21(1):104. In both published papers, the PhD student is the first author, and her contribution to the manuscripts amounts respectively to 55% and 60%, which was confirmed by other co-authors of the aforementioned papers. In addition, the doctoral thesis submitted for evaluation contains chapters of introduction, comments on the published papers, which include presentation of aims and objectives, materials and methods description, the results obtained, as well as discussion, conclusions and abstracts in English and Polish. The form of the doctoral dissertation presented for the review complies with Art. 13 of the Act of March 14, 2003 on academic degrees and academic titles as well as on degrees and titles in the art (Journal of Laws No. 65, item 595, as amended) and Art. 179 paragraph. 1 of the Act of July 3, 2018. provisions introducing the Act - Law on Higher Education and Science (Journal of Laws of 2018, item 1669, as amended).

In the introduction, the PhD student presented epidemiological problems of infections caused by drug-resistant bacterial strains, characterized natural peptides with antibacterial activity and discussed the therapeutic use of cathelicidins (especially LL-37) as natural antibacterial peptides as well as ceragenins and nanoparticles modified with ceragenins with potential applications in bacterial infections. The information presented in the introduction fully justifies the scope of the research constituting the basis of the doctoral dissertation presented by S. Prasad, MSc.

Based on the premises presented in the introduction and the review paper, the PhD student formulated the following aims and objectives of the doctoral dissertation: 1. To examine the antibacterial activity of ceragenins and ceragenin-conjugated peanut-shaped gold nanoparticles (AuNP@CSA) against the leading causative pathogens of otitis media, namely *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*; 2. To characterize, at the genomic and transcriptomic levels, the development of resistance during experimental adaptation of the nosocomial pathogen *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii* (ST89) to sub-inhibitory concentrations of ceragenins and the polycationic antibiotic - colistin.

In order to meet the defined aims and objectives, the PhD student conducted research on bacterial strains of *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), *Haemophilus influenzae* (ATCC 49766) and *Moraxella catarrhalis* (ATCC 25238) as well as clinical isolates of *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii* (ST89). In order to determine the antimicrobial activity (minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration), the serial dilution method and the colony counting test (in the culture medium and in the natural environment, i.e. human cerumen) were used. The biofilm formation characteristics was determined by crystal violet staining with chemiluminescent detection. The mechanisms of bactericidal activity were assessed by measuring: generation of free radicals (measurement of peroxides using dichlorofluorescein 2'-7'-diacetate, DCFH-DA), integrity / permeability of cell membranes (N-phenyl-1-naphthylamine, NPN; Bradford's reagent - with fluorescence and colorimetric detection, respectively). Biocompatibility was assessed by the MTT assay using human immortalized keratinocyte (HaCaT) cells. HaCaT cells exposed to *H. influenzae* also served as a model to determine IL-8 secretion (determined by ELISA). The mechanisms of *E. hormaechei* resistance to CSA-13 were determined by the whole genome and transcriptome sequencing (next-generation sequencing, Illumina system) and the data obtained were analyzed using standard bioinformatics methods. It should be noted that the experimental design and its implementation prove that the PhD student has a broad theoretical/methodological background and is skilled in laboratory techniques. The study design also reflects the expertise in the area of research of the supervisor, prof. Robert Bucki, who is a recognized expert in the field. Perhaps, due to the mechanism of action of ceragenins, another biocompatibility test (MTT assesses the oxidative activity of mitochondria) reflecting the integrity of the cell membrane, e.g. LDH test, should be included in the design of the study. In the characteristics of the studied nanostructures functionalized with ceragenins (structurally characterized by STEM, Raman spectroscopy, UV-VIS, TGA), there is no assessment of the stability of the complexes in experimental conditions (which potentially can affect the conclusions on their biological activity).

After a series of experiments, the PhD student showed, inter alia, enhanced antibacterial activity of ceragenin-functionalized peanut-shaped gold nanoparticles than free ceragenins; the mechanism of action of ceragenin-functionalized gold nanoparticles was associated with the disturbed integrity of the bacterial cell membrane and induction of oxidative stress as well as reduced potential of biofilm formation; ceragenin-functionalized peanut-shaped gold nanoparticles reduced the metabolic activity of human keratinocytes; ceragenin-functionalized peanut-shaped gold nanoparticles decreased production of IL-8 by human keratinocytes; colistin and ceragenins did not induce cross-resistance.

The discussion demonstrates expertise of Suhanya Prasad, MSc, and addresses the currently available knowledge in the field. However, perhaps the discussion chapter should also include information about the antibacterial activity of non-functionalized gold nanoparticles not included in the experimental settings (including this aspect in the research plan would allow for a better dissection of the proven antibacterial activity of many types of gold nanoparticles, i.e. to determine whether ceragenin functionalization increases the antibacterial activity of gold nanostructures).

Based on the research, the PhD student presented five conclusions: 1. Nonspherical gold nanoparticles (AuNPs) as drug carriers (AuNP@CSA) enhance the antibacterial action of ceragenins (CSAs) against planktonic and biofilm forms of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*, either under *in vitro*, i.e. in bacteriological growth media, as well as *ex vivo* conditions mimicking pathological lesion in the external ear canal, i.e. in the presence of human cerumen; 2. Ceragenin-containing nanosystems exert satisfactory biocompatibility in bacterial concentrations and limit the bacterial-induced inflammation augmenting the beneficial effects of tested agents in the treatment of otitis media infections; 3. Despite of common cationic nature of colistin and ceragenin CSA-13, the prolonged exposure of *Enterobacter hormaechei* to CSA-13 induced only moderate level resistance to this ceragenin (increase in MIC value from 4 to 32-64 µg/mL) in comparison to colistin (increase in MIC value from 0.125 to 128 µg/mL); 4. Molecular mechanisms responsible for the high level of resistance to colistin, including well-known colistin-resistant factors, developed by *E. hormaechei* during prolonged exposure to this antibiotic, have no impact on its susceptibility to ceragenin CSA-13; 5. Application of multi-omics methods, whole genome sequencing (WGS) and transcriptome sequencing (RNA-seq), allowed to identify of several novel mechanisms that directly or indirectly may contribute to the development of resistance to colistin and/or ceragenin CSA-13 in *E. hormaechei*.

The conclusions formulated by the PhD student well reflect the obtained results, they stem directly from the analysis of the obtained results. Some of the conclusions, however, require comments. In conclusion 2, the PhD student states that "Ceragenin-containing nanosystems show satisfactory biocompatibility ..." based on up to 30% reduced metabolic activity of human keratinocytes reported in the results. For biocompatibility testing, materials / drugs that reduce cell viability to 70% are considered biocompatible (EN ISO 10993-5, section 8.5). Analyzing the results, more than 30% reduction in the viability (in the range of bactericidal concentrations) is observed in the case of Au@CSA-13 and Au@CSA-131 (the toxicity of nanostructures was greater than that of ceragenins). In conclusion 5, in the absence of experimental verification of the results, it should be stated that ".. allowed to identify several" potential "mechanisms ..".

Concluding, it should be stated that the aim of the work has been fully achieved and the obtained results constitute the original achievement of Author, who has mastered the challenging laboratory methods and showed professional theoretical background. I judge that the thesis is a significant achievement with elements of scientific novelty and fully meets the requirements for doctoral dissertations. Therefore, I approach the Senate of the Medical University of Bialystok to promote PhD student Suhanya Prasad, MSc to the next stages of the doctoral process. Furthermore, due to the very high quality level of the dissertation, also appreciated by a group of international experts, I am applying for the *summa cum laude* distinction. The results of the studies were published in renowned international journals: *Nanomedicine* (Lond) (original paper) (IF = 6.096) and *International Journal of Molecular Sciences* (review article) (IF 5.924).



Prof. Marek Drożdżik, MD, PhD



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

## Katedra Farmakologii



RPW/21570/2022  
Data: 2022-10-27  
UMB

Szczecin, 23.10.2022

### OCENA

rozprawy doktorskiej mgr Suhanyi Prasad pt. "Non-peptide mimics of antimicrobial peptides and their functionalized gold nanosystems to combat antibiotic resistance" wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Roberta Buckiego oraz dr hab. Krzysztofa Fiedoruka z Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej i Inżynierii Nanobiomedycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Oporność na leki o aktywności przeciwbakteryjnej, tj. antybiotyki i chemioterapeutyki, jest nierozłącznie związana z klinicznym zastosowaniem ww. leków. Pierwsze odporne szczepy bakterii obserwuje się zazwyczaj po kilku latach od pierwszego klinicznego zastosowania leku, co ogranicza możliwości ich późniejszego skutecznego zastosowania. Coraz częstsze występowanie szczepów opornych przyczynia się do mniejszej skuteczności dostępnych terapii przeciwbakteryjnych, wpływając tym samym na gorsze rokowanie wielu chorych z infekcjami wywołanymi wieloopornymi szczepami. Z tego też względu, wobec braku perspektywy wprowadzenia nowych leków przeciwbakteryjnych przez przemysł farmaceutyczny, istotną rolę odgrywa postępowanie ograniczające rozwój lekooporności, zwłaszcza nieuzasadnione i niewłaściwe stosowanie tych leków. Szacuje się, że w Europie każdego roku ok. 400 000 zakażeń i 25 000 zgonów spowodowanych jest zakażeniami bakteriami opornymi na wiele leków, najczęściej *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*. Wśród powyżej wymienionych patogenów znajduje się *Streptococcus pneumoniae*, który mieści się w zakresie zainteresowań badawczych Doktorantki. Dlatego też temat badawczy podjęty przez mgr S. Prasad należy uznać za w pełni aktualny, poświęcony poszukiwaniu nowych strategii profilaktyki i leczenia zakażeń bakteryjnych, tj. określenia aktywności przeciwbakteryjnej ceragenin (CSA 13, CSA-44 i CSA-131) i funkcjonalizowanych cerageniną nanocząstek złota w kształcie orzeszków ziemnych jak również zdefiniowanie potencjalnych mechanizmów oporności *Enterobacter hormaechei* subsp. *Steigerwaltii*. Należy również podkreślić, że założenia rozprawy doktorskiej znalazły uznanie

ekspertów zewnętrznych, badania stanowiące podstawę przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej były finansowane przez Unię Europejską w ramach programu ramowego Horyzont 2020 oraz Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Na rozprawę doktorską mgr Suhanyi Prasad składają się dwie opublikowane w renomowanych czasopismach prace: praca oryginalna - Prasad SV, Piktel E, Depciuch J, Maximenko A, Suprewicz Ł, Daniluk T, Spałek J, Wnorowska U, M Zielinski P, Parlinska-Wojtan M, B Savage P, Okła S, Fiedoruk K, Bucki R. Targeting bacteria causing otitis media using nanosystems containing nonspherical gold nanoparticles and ceragenins. *Nanomedicine (Lond)*. 2021;16(30):2657-2678 oraz pogładowa - Prasad SV, Fiedoruk K, Daniluk T, Piktel E, Bucki R. Expression and Function of Host Defense Peptides at Inflammation Sites. *Int J Mol Sci*. 2019;21(1):104. W obu pracach Doktorantka jest pierwszym autorem, jej udział w powstaniu poszczególnych prac wynosi odpowiednio: 55% oraz 60%, co zostało potwierdzone przez pozostałych współautorów poszczególnych prac. Ponadto przedłożona do oceny praca zawiera wstęp, omówienie prac stanowiących podstawę przedłożonej rozprawy doktorskiej, na które składają się: przedstawienie celu badań, materiału i zastosowanych metod, uzyskanych wyników, jak również dyskusja, wnioski oraz streszczenia w języku angielskim i polskim. Przedstawiona do recenzji forma rozprawy doktorskiej jest zgodna z art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.) oraz art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.).

We wstępie Doktorantka przedstawiła problemy epidemiologiczne związane z zakażeniami wywołanymi przez lekooporne szczepy bakteryjne, scharakteryzowała naturalne peptydy o aktywności przeciwbakteryjnej oraz omówiła możliwości terapeutycznego zastosowania katelicydyn (zwłaszcza LL-37) jako naturalnych peptydów przeciwbakteryjnych oraz ceraganin i nanocząstek modyfikowanych ceraganinami o potencjalnym zastosowaniu w zakażeniach bakteryjnych. Informacje przedstawione we wstępie uzasadniają w pełni zakres badań stanowiących podstawę pracy doktorskiej opracowanej przez mgr S. Prasad.

W oparciu o przesłanki zawarte we wstępie i pracy pogładowej Doktorantka sformułowała następujące cele pracy doktorskiej: 1. Zbadanie aktywności przeciwbakteryjnej ceragenin i sprzężonych z cerageniną nanocząstek złota w kształcie orzeszków ziemnych (AuNP@CSA) wobec głównych patogenów wywołujących zapalenie ucha środkowego, a mianowicie *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* i *Moraxella catarrhalis*; 2. Scharakteryzowanie, na poziomie genomowym i transkryptomycznym, rozwoju oporności patogenu szpitalnego *Enterobacter*

*hormaechei* subsp. *steigerwaltii* (ST89) podczas eksperymentalnej adaptacji do subhamujących stężeń ceraganin i antybiotyku polikationowego – kolistyny.

Dla zrealizowania postawionych celów Doktorantka przeprowadziła badania na szczepach bakteryjnych *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), *Haemophilus influenzae* (ATCC 49766) i *Moraxalla catarrhalis* (ATCC 25238) oraz izolatach klinicznych *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii* (ST89). W celu określenia aktywności przeciwbakteryjnej (minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii oraz minimalne stężenie bakteriobójcze) zastosowano metodę seryjnych rozcieńczeń oraz test zliczania kolonii (w medium hodowlanym oraz w środowisku naturalnym, tj. ludzkiej woskowiny). Wpływ na tworzenie biofilmu określano metodą wybarwienia fioletem krystalicznym z detekcją chemiluminescencyjną. Mechanizmy aktywności bakteriobójczej oceniano poprzez pomiar: powstawania wolnych rodników (pomiar pochodnych nadtlenu za pomocą 2'-7'-diocetanu dichlorofluoresceiny, DCFH-DA), integralności/przepuszczalności błon komórkowych (N-fenyl-naftyloamina, NPN; odczynnik Bradforda – odpowiednio z detekcją fluorescencyjną oraz kolorymetryczną). Biozgodność oceniano testem MTT używając komórek ludzkich immortalizowanych keratynocytów (HaCaT). Komórki HaCaT narażone na *H. influenzae* posłużyły również jako model do określenia sekrecji IL-8 (oznaczanej metodą ELISA). Mechanizmy oporności *E. hormaechei* na CSA-13 określano poprzez sekwencjonowanie całego genomu oraz transkryptomu (sekwencjonowanie nowej generacji, system Illumina) a uzyskane dane analizowano za pomocą typowych metod bioinformatycznych. Należy stwierdzić, że sposób zaplanowania badań oraz ich realizacja świadczą o bardzo dobrym merytorycznym przygotowaniu Doktorantki. Wynikają one również z długotrwałej pracy i doświadczenia w obszarze prowadzonego badania promotora prof. Roberta Buckiego, który jest uznanym ekspertem w dziedzinie. W planowaniu badania być może powinno się uwzględnić, ze względu na mechanizm działania ceraganin, inny test biozgodności (MTT ocenia aktywność oksydacyjną mitochondriów) odzwierciedlający integralność błony komórkowej, np. test LDH. W charakterystyce badanych nanostruktur funkcjonalizowanych cerageninami (scharakteryzowanych pod względem strukturalnym: STEM, spektroskopia Ramana, UV-VIS, TGA) brak jest oceny stabilności kompleksów w warunkach eksperymentalnych (co potencjalnie utrudnia wnioskowanie dotyczące aktywności biologicznej).

Po przeprowadzeniu szeregu doświadczeń Doktorantka wykazała m.in., większą aktywność przeciwbakteryjną funkcjonalizowanych cerageniną nanocząstek złota w kształcie orzeszków ziemnych od wolnych ceragenin; mechanizm działania funkcjonalizowanych cerageniną nanocząstek złota jest związany z zaburzeniem integralności błony komórkowej bakterii i indukcją stresu oksydacyjnego i ograniczeniem powstawania biofilmu bakteryjnego; funkcjonalizowane cerageniną



nanocząstki złota w kształcie orzeszków ziemnych zmniejszają aktywność metaboliczną ludzkich keratynocytów; funkcjonalizowane cerageniną nanocząstki złota w kształcie orzeszków zmniejszają powstawanie IL-8 przez ludzkie keratynocyty; kolistyna i cerageniny nie wywołują oporności krzyżowej.

Dyskusja jest prowadzona dojrzałe, uwzględnia aktualnie dostępną wiedzę w dziedzinie. Jednakże być może dyskusja powinna również dotyczyć nie uwzględnioną w układzie doświadczalnym aktywność przeciwbakteryjną niefunkcjonalizowanych nanocząstek złota (uwzględnienie tego aspektu w planie badania umożliwiłoby lepsze wnioskowanie wobec udowodnionej aktywności przeciwbakteryjnej wielu typów nanocząstek złota, tj. określić czy funkcjonalizacja cerageniną zwiększa aktywność przeciwbakteryjną nanostruktur złota).

Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka przedstawiła pięć wniosków: 1. Niesferyczne nanocząstki złota (AuNP) jako nośniki leków (AuNP@CSA) wzmagają działanie przeciwbakteryjne ceragenin (CSA) przeciwko planktonicznym i biofilmowym formom *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* i *Moraxalla catarrhalis*, zarówno *in vitro*, tj. w pożywkach wzrostowych bakterii, a także *ex vivo* w warunkach odzwierciedlających zmiany patologiczne w przewodzie słuchowym zewnętrznym, tj. w obecności woskowiny ludzkiej; 2. Nanosystemy zawierające cerageninę wykazują zadowalającą biogodność w stężeniach bakteriobójczych i ograniczają stan zapalny wywoływany przez bakterie, zwiększając korzystne działanie badanych związków w leczeniu zakażenia ucha środkowego; 3. Pomimo wspólnego kationowego charakteru kolistyny i cerageniny CSA-13, przedłużona ekspozycja *Enterobacter hormaechei* na CSA-13 wywoływała jedynie umiarkowany stopień oporności na tę cerageninę (wzrost wartości MIC z 4 do 32-64 µg/ml) w porównaniu do kolistyny (wzrost wartości MIC z 0,125 do 128 µg/ml); 4. Mechanizmy molekularne odpowiedzialne za wysoką oporność na kolistynę, w tym dobrze znane czynniki oporności na kolistynę, obserwowane u *E. hormaechei* podczas długotrwałej ekspozycji na ten antybiotyk, nie mają wpływu na jego wrażliwość na cerageninę CSA-13; 5. Zastosowanie metod multi-omicznych, sekwencjonowania całego genomu (WGS) i sekwencjonowania transkryptomu (RNA-seq), pozwoliło zidentyfikować kilka nowych mechanizmów, które bezpośrednio lub pośrednio mogą przyczyniać się do rozwoju oporności na kolistynę i/lub cerageninę CSA-13 u *E. hormaechei*. Sformułowane przez Doktorantkę wnioski dobrze oddają uzyskane wyniki, wynikają bezpośrednio z analizy wyników uzyskanych w czasie realizacji badań. Niektóre z wniosków wymagają jednakże pewnych komentarzy. We wniosku 2 Doktorantka stwierdza, że „Nanosystemy zawierające cerageninę wykazują zadowalającą biogodność ...” w oparciu o do 30% zmniejszoną aktywność metaboliczną ludzkich keratynocytów zamieszczoną w wynikach. W przypadku badania biogodności za biogodne uznaje

się materiały/leki powodujące ograniczenie żywotności komórek do 70% (EN ISO 10993-5, section 8.5). Analizując wyniki ponad 30% zmniejszenie żywotności (w zakresie stężeń bakteriobójczych) obserwuje się w przypadku Au@CSA-13 i Au@CSA-131 (toksyczność nanostruktur była większa od caragenin). We wniosku 5, wobec braku eksperymentalnej weryfikacji wyników, należało by stwierdzić, że „... pozwoliło zidentyfikować kilka „potencjalnych” mechanizmów ...”.

Reasumując należy stwierdzić, że cel pracy został w pełni zrealizowany, a uzyskane wyniki są oryginalnym osiągnięciem Autorki, która dobrze opanowała niełatwy warsztat badawczy i wykazała dobre merytoryczne przygotowanie. Uważam, że praca stanowi znaczący dorobek z elementami nowości naukowych i w pełni odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim. Dlatego też zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Suhanyi Prasad do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na bardzo wysoki poziom merytoryczny pracy, docenionej również przez grono międzynarodowych ekspertów, wnioskuję o wyróżnienie pracy *summa cum laude*. Wyniki pracy opublikowano w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *Nanomedicine (Lond)* (praca oryginalna) (IF=6,096) oraz *International Journal of Molecular Sciences* (praca pogładowa) (IF 5,924).



Prof. dr hab. n. med. Marek Drożdżik