

20.12.2022

prof. dr hab. Gabriela Bugla-Płoskońska
Zakład Mikrobiologii

Recenzja rozprawy doktorskiej **mgr Zuzanny Ewy Sycz**
wykonanej w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
pt. „**Wpływ triterpenów pentacyklicznych na uropatogenne pałeczki
Gram-ujemne**”

Promotor: dr hab. Dorota Wojnicz
Promotor pomocniczy: dr Dorota Tichaczek-Goska

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest spójnym tematycznie zbiorem powiązanych tematycznie trzech artykułów opublikowanych w latach 2021-2022 w czasopismach: *Pharmaceutis* oraz *Biomolecules*. Czasopisma te znajdują się w wykazie czasopism Ministra Edukacji i Nauki z dnia 9 lutego 2021, ich sumaryczny IF to 18.653, a liczba punktów MEiN wynosi 300. **Mgr Zuzanna Ewa Sycz** jest pierwszym autorem we wszystkich trzech pracach. Z oświadczeń dołączonych przez Doktorantkę wynika, iż Doktorantka uczestniczyła m.in. w opracowywaniu koncepcji artykułów i opracowywaniu koncepcji badań oraz ich metodologii, wykonywała doświadczenia, opracowywała wyniki, formułowała hipotezy badawcze, przygotowywała treści manuskryptów i dokonała przeglądu piśmiennictwa.

W dokumentacji rozprawy doktorskiej, przedłożonej do oceny, wyróżniono rozdziały takie jak: nota informacyjna, wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, wprowadzenie, założenia i cele projektu badawczego, materiały i metody, publikacje zawarte w rozprawie doktorskiej. Dodatkowo, Doktorantka w dokumentacji umieściła rozdziały omawiające ocenę efektywności działania testowanych kwasu azjatykowego (AA) i ursolowego (UA) w hodowlach biofilmowych, analizę porównawczą i podsumowanie wyników, wnioski, wyniki dodatkowych eksperymentów i proponowane kierunki dalszych badań, a także streszczenia (w języku polskim oraz angielskim), wykaz skrótów, spis tabel, wykresów, rysunków i fotografii, bibliografię, notę biograficzną oraz dorobek naukowy i załączniki (opinia Komisji Bioetycznej, oświadczenia współautorów). Pod względem



ZAKŁAD MIKROBIOLOGII
ul. S. Przybyszewskiego 63
51-148 Wrocław
tel. +48 71 375 63 23
zmik@uwr.edu.pl | www.uni.wroc.pl

poprawności formalno-językowej, stylistycznej i interpunkcyjnej praca nie budzi zastrzeżeń.

Przedstawiona do recenzji praca jest kontynuacją badań dotyczących przeciwbakteryjnego działania kwasu azjatykowego (AA) i ursolowego (UA) prowadzonych w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przez dr hab. Dorotę Wojnicz (Promotorkę pracy doktorskiej). Na podstawie wcześniejszych, opublikowanych prac zespołu, Doktorantka postawiła nowe, trafne hipotezy. Badania objęte pracą dokorską prowadzono w ramach Grantu badawczego dla młodych Naukowców UMW.

Głównym celem pracy doktorskiej było określenie wzajemnych zależności między szczepami bakterii *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* oraz *Pseudomonas aeruginosa*, wzrastających w biofilmach jedno i wielogatunkowych oraz określenie wpływu kwasu azjatykowego (AA) i ursolowego (UA), należących do triterpenów pentacyklicznych, na strukturę oraz funkcjonalnie biofilmów złożonych z w/w bakterii.

Tematykę i zakres badań ujętych w niniejszej rozprawie należy uznać za bardzo aktualną. Obecnie, w dobie narastającej nieustannie antybiotykooporności wśród różnych gatunków bakterii, poszukiwanie nowych związków bójczych, nowych terapii, w leczeniu schorzeń bakteryjnych, w tym powodowanych przez bakterie rosnące w postaci biofilmów, uznać należy za bardzo istotny i konieczny nurt w badaniach mikrobiologicznych. Poszukiwanie nowych substancji bakteriobójczych w roślinach ma swoją długą historycznie tradycję, ale obecnie wydaje się przechodzić uzasadniony renesans, gdyż odnajdywanie w naturze związków pochodzenia roślinnego mającego zastosowania bójcze wobec bakterii, w tym wykazujących strategie wzrostu w biofilmie, a do tego często jeszcze wielolekoopornych, ma ogromny potencjał, także aplikacyjny. Dodatkowym obecnie wyzwaniem dla naukowców jest poszukiwanie nowych, aktywnych biologicznie związków ze względu na fakt, iż struktura biofilmu wymusza stosowanie wysokich stężeń antybiotyków, co jest sytuacją niekorzystną dla leczonych. Cennymi, z mikrobiologicznego punktu widzenia są podjęte przez Doktorantkę badania nad wielogatunkowymi konsorcjami biofilmowymi, które są powszechnie występujące i niestety trudne do zwalczania. Obiektem badawczym w pracy doktorskiej były bakterie (*E. coli*, *E. cloacae* oraz *P. aeruginosa*), posiadające cechy wirulencji ułatwiające zarówno kolonizację, jak i wzrost w postaci biofilmu, a w konsekwencji doprowadzanie do rozwoju zakażeń układu moczowego (ZUM).

We wprowadzeniu do rozprawy doktorskiej Autorka omawia chorobotwórczość, cechy wirulencji wspomnianych bakterii, ich antybiotykooporność. W początkowej części



ZAKŁAD MIKROBIOLOGII

ul. S. Przybyszewskiego 63
51-148 Wrocław
tel. +48 71 375 63 23
zmik@uwr.edu.pl | www.uni.wroc.pl

pracy Doktorantka omawia także budowę i powstanie biofilmu, oraz w interesujący sposób omawia proces leczenia CAUTI, tj. zakażeń układu moczowego u pacjentów zacewnikowanych. Opis ten oceniam jako spójny i dobrze przygotowany. Tytułem dyskusji z Doktorantką poproszę o odpowiedź na trzy pytania:

- jakie obecnie stosuje się, inne niż antybiotykoterapia, metody zapobiegania i leczenia ZUM?
- czy znane są przeciwwskazania w stosowaniu terapeutycznym kwasu azjatykowego oraz ursolowego?
- jaka jest opinia Doktorantki nt. ewentualnego rozwoju oporności bakterii na testowane w pracy doktorskiej związki?

W metodyce pracy doktorskiej zastosowano standardowe techniki mikrobiologiczne dotyczące wyznaczania wartości MIC oraz MBC dla hodowli biofilmowych, techniki mikroskopowe oraz analizę statystyczną wyników. Metodyka ta jest graficznie czytelnie przedstawiona, drobna uwaga dotyczy braku opisów, w legendzie, znaczenia barw zwizualizowanych na zdjęciach 2 i 3, taki opis ułatwiłby analizę tekstu.

W obszernej pracy przeglądowej opublikowanej w 2022 w *Biomolecules*, omawiającej działanie kwasów UA, oraz AA na hodowle biofilmowe oraz formy planktoniczne bakterii, na wyróżnienie zasługują bardzo dobrze przygotowane zestawienia tabelaryczne oraz schematy. Całość opracowania świadczy o szczegółowym zgłębieniu tematyki badawczej przez Doktorantkę. Do tej części pracy mam dwa pytania oraz uwagę:

- czy opisane, poszczególne mechanizmy działania antybakteryjnego kwasów AA oraz UA są charakterystyczne dla określonych gatunków bakterii czy raczej uznać należy że jest to działanie uniwersalne wobec grup bakterii np. Gram-ujemnych lub Gram-dodatnich?
- czy są obecnie jakieś technologiczne/produkcyjne trudności dla pozyskiwania surowców oraz produkcji na ich bazie związków leczniczych zawierających AA i UA na szeroką skalę?
- w pracy pojawia się niedociągnięcie w postaci złej nomenklatury pisowni serowarów *Salmonella*.

Kolejne dwie prace są artykułami oryginalnymi, prezentującymi wyniki uzyskane przez Doktorantkę. W obu pracach wyczerpująco przedstawiono metodykę. Wyniki pod względem formy przedstawienia (liczne, czytelne wykresy) i interpretacji zasługują na wyróżnienie,



również dyskusja otrzymanych wyników jest dojrzała i oparta na najnowszej, dostępnej w tej tematyce literaturze. Analizując otrzymane wyniki, należy docenić ogromny wkład pracy manualnej, jaki włożyła Doktorantka w eksperymenty.

Z mikrobiologicznego punktu widzenia niezwykle ciekawą jest obserwacja filamentowania komórek *E. coli* oraz *E. cloacae* w obecności AA i braku tej filamentacji u *P. aeruginosa*. Interesujące, że zaobserwowano filamentację u *P. aeruginosa*, ale w obecności UA. Te badania powinny być w przyszłości kontynuowane. Jak Doktorantka tłumaczy na poziomie interakcji molekularnych lub chemicznych wzajemnie antagonistyczne oddziaływanie testowanych bakterii w biofilmach? Czy zakładamy, że bakterie współpracują w kreowaniu dojrzałego, wielogatunkowego biofilmu, skutkującego doprowadzeniem do ZUM? Czy raczej konkurują? Jak zjawisko QS może być tłumaczone w odniesieniu do wielogatunkowych konsorcjów bakterii w zakażeniach układu moczowego?

W przedstawionej do oceny dokumentacji rozprawy doktorskiej Doktorantka umieściła obszernie wnioski. Z przedstawionych wniosków na szczególne wyróżnienie zasługują te wskazujące na fakt, iż kwasy AA oraz UA w sposób istotny statystycznie wpływają na przeżywalność testowanych w biofilmach bakterii, ich aktywność metaboliczną, produkcję masy biofilmowej, a także oddziaływania między bakteriami oraz że silniejsze działanie bakteriobójcze i antybiofilmowe wykazuje AA, natomiast większą redukcję aktywności metabolicznej wykazywał związek UA. Otrzymane wyniki mogą mieć praktyczne zastosowanie terapeutyczne.

Mimo, że rozprawa doktorska to cykl trzech publikacji, Doktorantka w dokumentacji dodała rozdział pt. „Ocena efektywności działania kwasu azjatykowego (AA) i ursolowego (UA) w hodowlach biofilmowych”. Rozumiem, że celowość dodania tego rozdziału wynikała z uzyskania większej liczby dodatkowych wyników na bazie których Doktorantka pokazała inne zależności. Bardzo praktycznym i ułatwiającym analizę takiego fragmentu byłoby wykonanie, zamiast lub obok opisów, końcowego zestawienia tabelarycznego wniosków z odniesieniami do opublikowanych wyników własnych. Rozumiem, że Autorka w tym dodatkowym rozdziale chciała przedstawić wszystkie swoje wyniki, których liczba jest imponująca, ale korelacja z opublikowanymi pracami oraz odniesienia powinny być tutaj umieszczone.

Cennymi, z punktu widzenia dalszych badań, są dodatkowe eksperymenty, jakie wykonała Doktorantka, które nie były częścią opublikowanych prac. Doktorantka trafnie



ZAKŁAD MIKROBIOLOGII

ul. S. Przybyszewskiego 63
51-148 Wrocław
tel. +48 71 375 63 23
zmik@uwr.edu.pl | www.uni.wroc.pl

wskazuje konieczne, przyszłe kierunki badań w tematyce rozprawy doktorskiej, szczególnie w zakresie walidacji zasad działania przeciwbakteryjnego testowanych związków.

Doktorantka w dokumentacji przedstawiła także całość swoich osiągnięć naukowo-badawczych, które oceniam wysoko. Mgr Zuzanna Sycz jest autorką 4 publikacji w czasopismach posiadających IF, rozdziałów w monografiach, była także współautorką aż 53 streszczeń zjazdowych.

Podsumowując stwierdzam, iż rozprawa doktorska **mgr Zuzanny Ewy Sycz**, stanowiąca zbiór trzech powiązanych tematycznie artykułów naukowych, wykonana w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pt. „**Wpływ triterpenów pentacyklicznych na uropatogenne pałeczki Gram-ujemne**” została dobrze zaplanowana i prawidłowo wykonana. **Mgr Zuzanna Ewa Sycz** wykazała się nie tylko umiejętnościami w zakresie opracowania koncepcji czy metodologii badań, ale także przeprowadzenia eksperymentów mikrobiologicznych oraz dokonania złożonej interpretacji wyników. Doktorantka wykazała się także umiejętnościami przygotowywania artykułów naukowych, które opublikowane zostały w czasopismach indeksowanych na liście MEiN. Są to niezwykle cenne umiejętności Doktorantki, które oceniam bardzo wysoko.

Biorąc pod uwagę powyższe, stwierdzam, iż rozprawa doktorska **mgr Zuzanny Ewy Sycz** spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz.595, z późn.zm.). Zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z uprzejmą prośbą o dopuszczenie **mgr Zuzanny Ewy Sycz** do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Gabriele Bryk-Prokocim