



**UNIwersytet Medyczny w Lublinie
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY**

KATEDRA I ZAKŁAD MIKROBIOLOGII FARMACEUTYCZNEJ

ul. dr W. Chodźki 1, 20-093 Lublin; tel. (fax) 81-448-71-00

Lublin, 29 września 2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Dydak pt. „Wytwarzanie i ocena właściwości prototypowych produktów z bakteryjnej celulozy do zastosowań farmaceutycznych i leczniczych”, wykonanej w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Rozprawę doktorską wykonano pod kierunkiem prof. dr hab. Marzenny Bartoszewicz, promotorem pomocniczym jest dr hab. Adam Junka, profesor uczelni.

Problemem, z którym boryka się wielu pacjentów i pracowników ochrony zdrowia, są zakażenia ran przewlekłych i związanych z wykorzystywaniem implantów. Są one trudne w leczeniu, a drobnoustroje, które je zasiedlają, cechują specyficzne właściwości, w tym duże zdolności adaptacyjne oraz znacząca i ciągle narastająca lekooporność/wielolekooporność. Cechy te są dodatkowo potęgowane przez zdolności mikroorganizmów do wzrostu w strukturze biofilmu. Przewlekły charakter tych ran oraz mikrośrodowisko w ich obrębie i otoczeniu prowadzą zwykle do pogorszenia stanu pacjenta, a w konsekwencji do zaburzeń homeostazy w organizmie, powstawania niekorzystnych zmian strukturalnych i zmniejszenia sprawności funkcjonalnej oraz generowania kosztów ekonomicznych (długotrwałe i często kosztowne leczenie, absencja w pracy, zasiłki, konieczność korzystania z opieki i wsparcia innych osób, itp.).

W grupie czynników potencjalnie znaczących w leczeniu pacjentów, u których występują rany przewlekłe albo związane z implantem, lub podczas działań profilaktycznych znaczącą rolę odgrywają produkty do zastosowań farmaceutycznych i leczniczych, bazujące na naturalnych surowcach i materiałach biologicznych. Rozwój nauk biologicznych, ich interdyscyplinarność i wielokierunkowość, oraz coraz większa wiedza i intensywność poszukiwań nowych i przydatnych dla celów zdrowotnych rozwiązań przyczyniają się do powstawania i opracowywania kolejnych produktów czy wyrobów mających zastosowanie lecznicze i

farmaceutyczne, opartych na naturalnych surowcach i biomateriałach oraz w całości lub w znaczącej części biologicznych metodach ich otrzymywania.

Podczas realizacji pracy doktorskiej, Pani mgr Karolina Dydak poruszała się w zagadnieniach tematycznie związanych z działalnością naukową i praktycznymi aspektami potencjalnych zastosowań rezultatów uzyskiwanych przez zespół badaczy w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Pracę badawczą wykonywała pod okiem prof. Marzenny Bartoszewicz i innych specjalistów o bardzo dużej wiedzy na temat mikroorganizmów i ich cech, takich jak np. zdolność wzrostu w strukturze biofilmu, mniej lub bardziej istotnych dla efektywności leczenia pacjenta lub eradykacji drobnoustrojów nawet z bardzo trudnych przypadków klinicznych.

Zagadnienia badawcze sformułowane w temacie pracy, a dotyczące wytworzenia i określenia właściwości prototypowych produktów do zastosowań farmaceutycznych i leczniczych dotyczą wielu zagadnień szczegółowych zmierzających do poszerzenia wiedzy na temat celulozy bakteryjnej, jej cech i właściwości produktów powstających na bazie celulozy wytworzonej przez bakterie oraz do poszukiwania możliwości zastosowań praktycznych w profilaktyce i terapii zakażonych ran przewlekłych i związanych z wykorzystywaniem implantów. Wiedza na ten temat i ocena możliwości zastosowań takich produktów może przyczynić się do pozyskania celulozy bakteryjnej o bardzo przydatnych właściwościach zarówno na etapie formowania, łączenia z różnymi związkami i substancjami o działaniu np. przeciwdrobnoustrojowym, przeciwzapalnym i przeciwbólowym jak i pobudzającym gojenie i regenerację tkanek. Może się to przyczynić do poszerzenia panelu środków terapeutycznych i profilaktycznych przydatnych w wielu kierunkach medycznych i klinicznych. Z tego względu tematyka badawcza, którą zajmuje się Zespół i w której bierze udział Doktorantka, jest bardzo nowatorska i bardzo potrzebna w wielu zakresach tzw. opieki zdrowotnej. Uważam zagadnienia podjęte w temacie dysertacji za bardzo uzasadnione i potrzebne.

Recenzowana rozprawa doktorska ma bardzo syntetyczny układ, składający się z liczącego 13 stron opracowania złożonego m.in. z wiadomości wstępnych, spisu literatury oraz streszczeń w języku polskim i angielskim, w tym wprowadzenia do pracy. Podstawę recenzowanej rozprawy doktorskiej stanowią trzy oryginalne publikacje, w których Doktorantka jest pierwszym autorem (sumaryczna punktacja IF ww. prac wynosi 15,192, liczba punktów MNiSW - 320 pkt):

1. **Dydak K**, Junka A, Szymczyk P, Chodaczek G, Toporkiewicz M, Fijałkowski K, Dudek B, Bartoszewicz M (2018) Development and biological evaluation of Ti6Al7Nb scaffold implants coated with gentamycin-saturated bacterial cellulose biomaterial. PLoS ONE 13(10): e0205205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205205>

2. **Dydak K**, Junka A, Dydak A, Brożyna M, Paleczny J, Fijałkowski K, Kubiela G, Aniołek O, Bartoszewicz M. In Vitro Efficacy of Bacterial Cellulose Dressings Chemisorbed with Antiseptics against Biofilm Formed by Pathogens Isolated from Chronic Wounds. Int J Mol Sci. 2021 Apr 13;22(8):3996. doi: 10.3390/ijms22083996. PMID: 33924416; PMCID: PMC8069587 (cytowania wg PubMed = 28 razy)

3. **Dydak K**, Junka A, Nowacki G, Paleczny J, Szymczyk-Ziółkowska P, Górzyńska A, Aniołek O, Bartoszewicz M. In Vitro Cytotoxicity, Colonisation by Fibroblasts and Antimicrobial Properties of Surgical Meshes Coated with Bacterial Cellulose. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(9):4835. <https://doi.org/10.3390/ijms23094835>

Zgodnie z podanym w oświadczeniach procentowym udziałem poszczególnych współautorów (w każdym przypadku było to po 5%), ich wkład w powstawanie ww. publikacji wynosił od 35% do 45%. W publikacjach tych Doktorantka zajmuje się możliwościami wykorzystania celulozy bakteryjnej jako materiału do otrzymywania prototypowych produktów, a w perspektywie wyrobów medycznych i produktów farmaceutycznych, mechanicznie wytrzymałych i biodegradowalnych, o bardzo dobrych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych, w tym przeciwdrobnoustrojowych, przeciwzapalnych i przeciwbólowych.

W celu realizacji założeń pracy Autorka przeprowadziła badania o zróżnicowanym stopniu złożoności zarówno wobec komórek drobnoustrojów w formie planktonowej jak i tworzących biofilm. Warto zaznaczyć, że planując badania, uwzględniono wielokierunkowość zastosowań bakteryjnej celulozy i prototypowych produktów powstających na jej bazie oraz złożoność i potencjalny wpływ wielokierunkowych procesów, które zachodzą w organizmie, w którym toczy się proces infekcyjny i zapalny wywoływany m.in. obecnością drobnoustrojów, głównie bakterii, ale także grzybów. Pozwoliło to zwrócić uwagę na to, że celuloza bakteryjna może być wykorzystywana do samodzielnego lub, dzięki dużej zdolności do absorpcji i następnie uwalniania środków przeciwdrobnoustrojowych, wspomagającego zastosowania. Jak wykazała Doktorantka, biometrial ten może zostać wykorzystany do powlekania implantów kości, siatek celulozowych oraz wypełniania opatrunków, a pozytywny i oczekiwany efekt działania może być zwiększony poprzez takie cechy bakteryjnej celulozy, jak właściwości chłonne i

absorpcyjne, oraz zdolność uwalniania różnych substancji przeciwdrobnoustrojowych, w tym antybiotyków (na przykładzie gentamycyny) i substancji nie będących antybiotykami (antyseptyków) w czasie stosowania na zakażone rany. Publikacje są też cennym źródłem informacji na temat możliwości zastosowań bakteryjnej celulozy w leczeniu ran przewlekłych, w których drobnoustroje bytują w strukturze biofilmu. Obecność biofilmu stwarza szereg zagrożeń i znacznie ogranicza możliwości skutecznej eradykacji drobnoustrojów, natomiast wykazane przez p. Dydak efekty zastosowania bakteryjnej celulozy są bardzo interesujące i mają ogromne znaczenie praktyczne. Tym bardziej, że badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem różnych metod i modeli eksperymentalnych, w tym środowiska imitującego ranę przewlekłą, technik obrazowych oraz metod ilościowych i jakościowych. Uznanie budzi zarówno zakres jak i sposób zaprojektowania badań oraz nowatorskie podejście do omawianej problematyki.

Pod względem doboru modeli doświadczalnych i realizacji badań oraz interpretacji otrzymywanych danych z ukierunkowaniem na różne modyfikacje pozyskiwania tego materiału i efekt końcowy, jakim ma być otrzymywanie produktów opartych na znanych już i wykorzystywanych materiałach bazowych, modyfikowanych poprzez zastosowanie bakteryjnej celulozy i wykorzystanie siedmiu związków i substancji przeciwdrobnoustrojowych o charakterze nieantybiotykowym i antybiotyku (gentamycyny) do profilaktyki i leczenia zakażonych ran przewlekłych i związanych z implantem. W toku doświadczeń wykorzystano 11 szczepów wzorcowych, 45 izolatów klinicznych wyosobnionych z ran przewlekłych oraz 2 linie wzorcowe komórek fibroblastów i osteoblastów, a także 4 materiały bazowe będące matrycą do nanoszenia powłoki celulozowej. W badaniach aktywności przeciwdrobnoustrojowej otrzymanych prototypów wyrobów medycznych zastosowane zostały metody ilościowe i jakościowe, rutynowo stosowane w laboratoriach mikrobiologicznych oraz nowoczesne techniki badawcze, w tym obrazowe. W publikacjach, których recenzje zostały dokonane przed publikacją w czasopiśmie, dane uzyskane podczas badań zostały przedstawione w sposób logiczny i zwarty, a uzyskane wyniki stanowią odpowiedź na postawione w dysertacji cele badawcze.

Po „Wykazie publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej” zostały umieszczone następujące rozdziały: „Wprowadzenie” (2 strony), „Cel pracy” (1 strona), „Realizacja celów naukowych” (4 strony), „Literatura/Piśmiennictwo” (2 strony, 22 pozycje literaturowych), Streszczenia w języku polskim i angielskim (po 1,5 strony). Do rozprawy dołączono „Oświadczenie dotyczące Komisji Bioetycznej” i „Oświadczenie o oryginalności pracy”,

„Dorobek naukowy” oraz kopie trzech publikacji i do poszczególnych publikacji „Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład w powstanie rozprawy doktorskiej”.

Konstrukcja pracy wskazuje na kolejność zagadnień, którymi zajmowała się Pani mgr Karolina Dydak. Jednak przyjęta forma doktoratu i wprowadzenia w jego tematykę, zakres, cel oraz uzyskane dane bardzo utrudnia określenie udziału własnego doktorantki w uzyskanie celów badawczych oraz określenie wagi uzyskanych rezultatów. Jakkolwiek dysertacja opiera się na publikacjach, wartościowe by było napisanie krótkiego autoreferatu, zwłaszcza w kontekście pracy włożonej przez Doktorantkę zarówno w część doświadczalną jak i w powstawanie publikacji.

Pomimo poruszenia kilku zagadnień we Wprowadzeniu, rozdział ten pozostawia odczucie pewnego braku wynikającego z niedosytu informacji na temat bakteryjnej celulozy, w tym np. aktualnych danych na temat badań w tym temacie, potencjalnych, w szerszym zakresie omówionych niż zrobiła to Autorka zastosowań, zwłaszcza praktycznych. Wprowadzenie w kilku miejscach akapitów na pewno by ułatwiło czytanie tego rozdziału.

Rozdział „Cel pracy” stanowi mieszanię informacji wskazujących na cel pracy badawczej oraz częściowo wyników, jakie zostały przedstawione w poszczególnych publikacjach. Uważam, że wyniki powinny być przedstawione w sposób bardzo syntetyczny, ale w oddzielnym rozdziale, którego niestety zabrakło. Mojej opinii nie zmienia fakt udostępnienia tych danych w formie publikacji.

Rozdział „Realizacja celów naukowych” (4 strony) zawiera głównie spis metod bez podania, w jakim zakresie są one wzorowane na literaturze, a w jakim polegały na modyfikacjach lub opracowaniach własnych. Ujęte zostały w tym rozdziale również informacje na temat materiałów, w tym szczepów wzorcowych i klinicznych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych oraz szczepu wzorcowego grzyba *Candida albicans*, wykorzystanych podczas realizacji zadań badawczych. Wymienione zostały również związki i substancje o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, wykorzystywane w czasie badań do modyfikacji celulozy bakteryjnej. Także w tym rozdziale umieszczone zostały niektóre wyniki oraz podsumowanie uzyskanych danych. O wiele korzystniejsze byłoby ich umieszczenie w postaci krótkich, ale odrębnych rozdziałów. Brakuje również dyskusji, który pozwoliłby na dokładniejsze zaprezentowanie danych otrzymanych we wszystkich trzech publikacjach na tle osiągnięć innych autorów czy całego zespołu badawczego z rodzimej Katedry. Bardzo przydatna i

2

4

pomocna byłaby wnikliwa analiza wyników dokonana przez Doktorantkę oraz zaprezentowanie opartych na pracach wniosków, dotyczących np. przyczyn obserwowanych zjawisk, a także szczegółowego uzasadnienia przyjętych w czasie badań rozwiązań. Opracowanie bardziej wnikliwej dyskusji na podstawie dostępnej obecnie literatury (prace były opublikowane w latach 2018-2022) byłoby na pewno ciekawe i pozwoliłoby na wyciągnięcie daleko idących wniosków oraz określenie dalszych kierunków badań.

Uwagi, które zostały przedstawione w treści recenzji rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Dydak nie pomniejszają merytorycznej wartości oraz wysokiej oceny dysertacji i praktycznego znaczenia przedstawionych wyników oraz szacunku dla pracy, jaka została włożona w ich uzyskanie. Pracę doktorską Doktorantki oceniam jako znaczącą ze względu na poruszany temat, nowatorskie podejście do prezentowanych zagadnień oraz praktyczne aspekty otrzymanych danych i ich cechy aplikacyjne. Na uwagę zasługuje fakt, że wszystkie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w wysoko impaktowanych czasopismach, w tym dwie w International Journal of Molecular Sciences o IF 6,028 i punktacji MNiSW = 140. Znaczący jest również całkowity dorobek Doktorantki, w tym współautorstwo 20 prac, z czego osiem opublikowano w impaktowanych czasopismach. Pani Dydak jest również współautorką opublikowanej w 2020 r. książki zawierającej rekomendacje grupy ekspertów z zakresu zasad diagnostyki zakażeń krwi. Do istotnych aktywności należy także udział Doktorantki w różnych zjazdach, konferencjach i sympozjach naukowych, potwierdzony współautorstwem 40 streszczeń.

Pani Karolina Dydak aktywnie uczestniczyła w projektach naukowych, w tym w dwóch była kierownikiem (projekt finansowany w ramach subwencji na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego SUBK.D230.22.060 i Grant Młodych Naukowców STM.D230.20.053) oraz w trzech członkiem zespołu naukowego (dwa Granty Młodych Naukowców i jeden projekt wewnętrzny Katedry i Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii). Do istotnych zadań, które realizowała Doktorantka, należy popularyzowanie wiedzy poprzez prowadzenie projektów i zajęć podczas Dolnośląskiego Festiwalu Nauki, warsztatów dla studentów farmacji, Nocy Laboratoriów oraz warsztatów dla uczniów liceum i zajęć podczas Dni Otwartych Wydziału.

Zarówno zaangażowanie Pani Dydak w działalność naukową i dydaktyczną oraz popularyzowanie wiedzy jak i tematyka badawcza prezentowana w dysertacji doktorskiej zasługują na uznanie. Podjęta przez Doktorantkę tematyka wykorzystania celulozy bakteryjnej w wytwarzaniu produktów o wysokich walorach fizyko-chemicznych, małej cytotoksyczności,

dużej wytrzymałości i całkowicie biodegradowalnych zasługuje na uwagę i prowadzi do lepszego poznania sposobów zwalczania zakażeń ran przewlekłych i wynikających z obecności implantów. Stwarza to realną perspektywę pozyskania nowej klasy opatrunków o silnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i regeneracyjnych, tak bardzo potrzebnych w dobie narastania lekooporności drobnoustrojów i wobec problemów wynikających z coraz większej liczby przypadków takich ran u osób z chorobami cywilizacyjnymi, takimi jak np. cukrzyca czy otyłość. Stąd też dalsze prace nad tymi zagadnieniami stanowią obecnie nagłą potrzebę.

Podsumowanie

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska, autorstwa mgr Karoliny Dydak spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 2. i 3. Ustawy z 3 lipca 2018 roku Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy pani mgr Karoliny Dydak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, w związku z wysokim poziomem i jakością wykonanych badań i praktycznym zakresem uzyskanych wyników, wnioskuję o wyróżnienie dysertacji mgr Karoliny Dydak.

Z wyrazami szacunku,

dr hab. n. farm. Urszula Kosikowska
profesor UM
Urszula Kosikowska
Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie