

dr hab.n.med. Mirosław Śnietura
Śląski Uniwersytet Medyczny,
Wydział Nauk Medycznych w Katowicach
Katedra i Zakład Patomorfologii i Diagnostyki Molekularnej
ul. Medyków 18, 40-752 Katowice

Politechnika Śląska
Wydział Inżynierii Biomedycznej
Katedra Informatyki Medycznej i Sztucznej Inteligencji
ul. Roosevelta 40, 41-800 Zabrze

Recenzja

osiągnięć naukowych dr inż. Dominika Drabika w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitacyjnym w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria biomedyczna.

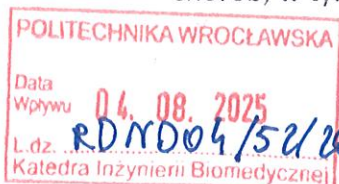
1. Podstawa opracowania recenzji i jej zakres

Podstawę formalną niniejszej recenzji osiągnięć naukowych habilitanta stanowi pismo z dnia 07.04.2025 sygnatura RDND04/18/2025 skierowane do mnie przez prof. dr hab.inż. Małgorzatę Kotulską Przewodniczącą Rady Dyscypliny Naukowej Inżyniera Biomedyczna Politechniki Wrocławskiej.

2. Sylwetka kandydata

Dominik Drabik jest adiunktem badawczo-dydaktycznym w Katedrze Inżynierii Biomedycznej, Wydziału Podstawowych Problemów Techniki, Politechniki Wrocławskiej. Zainteresowania naukowe habilitanta koncentrują się w następujących obszarach badawczych:

- **Biofizyczne właściwości błon lipidowych:** Badanie właściwości wyłaniających się błon lipidowych, takich jak grubość, współczynnik zginania, interdigitacja, pole powierzchni na lipid, napięcie powierzchniowe i uporządkowanie, z użyciem symulacji dynamiki molekularnej i metod eksperymentalnych.
- **Wpływ organizacji błon na ich funkcje:** Analiza jak organizacja przestrzenna błon (asymetria, domeny) wpływa na ich właściwości i interakcje z białkami.
- **Zaburzenia homeostazy błonowej:** Badanie, jak zakłócenia w homeostazie parametrów błon lipidowych wpływają na ich funkcje i potencjalnie prowadzą do chorób, w tym analiza potencjalnych metod antybakteryjnych.



sh

- **Modelowanie i symulacje:** Wykorzystanie dynamiki molekularnej, symulacji Monte Carlo i metod numerycznych do modelowania i charakteryzowania błon biologicznych.
- **Rozwój metod badawczych:** Opracowywanie i adaptacja nowych technik eksperymentalnych i obliczeniowych do badania błon lipidowych, np. adaptacja fluorescencyjnej spektroskopii korelacyjnej do analizy mikroliposomów.

Wszystkie dotychczasowe szczeble kariery naukowej dr inż. Dominik Drabik zdobył na Politechnice Wrocławskiej, gdzie w 2013 ukończył z wynikiem bardzo dobrym studia inżynierskie na kierunku Fizyka Techniczna w specjalności Nanotechnologia. Rok później, również z wynikiem bardzo dobrym ukończył studia i obronił pracę magisterską na temat dyfuzji agregatów lipidowych badanych techniką fluorescencyjnej spektroskopii korelacyjnej. Stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie Inżynieria Biomedyczna uzyskał z wyróżnieniem w 2020 roku po obronie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Rozwój metod doświadczalnych do wyznaczania parametrów mechanicznych błon lipidowych”.

Habilitant jest laureatem szeregu stypendiów i wyróżnień w tym między innymi Stypendium Ministra dla wybitnych młodych naukowców, Stypendium dla doktorantów miasta Wrocławia, Stypendium dla najlepszych doktorantów Politechniki Wrocławskiej.

3. Ocena osiągnięć naukowych i ich wkładu w rozwój dyscypliny

Przedstawione do recenzji osiągnięcie naukowe stanowi cykl sześciu powiązanych tematycznie publikacji pod zbiorczym tytułem „Konsekwencje zaburzenia homeostazy parametrów błony lipidowej dla jej funkcjonalności, stabilności i organizacji” opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych w latach 2021 - 2024. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) cyklu publikacji wynosi 29,72, natomiast sumaryczna liczba punktów MNiSW wynosi 760. W skład cyklu wchodzi poniżej wyszczególnione artykuły oryginalne, w których habilitant jest trzykrotnie pierwszym autorem, [2], [3], [4], dwukrotnie ostatnim autorem, [1], [5], a w jednym drugim autorem [6].

3.1. Omówienie artykułów wchodzących w skład cyklu

[1] Multifaceted Activity of Fabimycin: Insights from Molecular Dynamics Studies on Bacterial Membrane Models

Mateusz Rzycki* and Dominik Drabik,

J. Chem. Inf. Model., 64, 10, 4204–4217 (2024).

Impact Factor: 5,6 (2023), Punktacja MEiN: 100 (2024)

W pracy autor bada wpływ fabimycyny (F2B), nowej cząsteczki przeciwdrobnoustrojowej, na błony bakteryjne przy użyciu symulacji dynamiki molekularnej (MD). Symulacje MD wykazały, iż F2B silniej oddziałuje z błonami bakteryjnymi w porównaniu z systemami kontrolnymi (homogenicznymi warstwami fosfatydylocholinowymi) i powoduje zmiany lokalnych właściwości błon, takich jak dyfuzja lateralna i grubość błony. Badanie ujawnia również, że działanie F2B różni się w zależności od złożoności systemów błonowych, co wskazuje na jego potencjał do zakłócania homeostazy błon bakteryjnych. Odkrycia sugerują, że działanie F2B wykracza poza znany mechanizm hamowania enzymu FabI (reduktaza enoilowo-ACP), który odgrywa kluczową rolę w biosyntezie kwasów tłuszczowych u bakterii przez co jest obiecującym celem wielu nowych cząsteczek bakteriobójczych.

Kluczowe wnioski płynące z pracy:

- F2B wykazuje większe powinowactwo do błon bakteryjnych i indukuje lokalne zaburzenia kluczowych właściwości błon.
- Działanie F2B wykracza poza konwencjonalne inaktywowanie enzymu FabI, podkreślając jego wieloaspektowy potencjał jako wszechstronnego środka do zwalczania infekcji bakteryjnych.
- Interakcja F2B z błoną jest kluczowa w zwalczaniu infekcji bakteryjnych, szczególnie tych wywołanych przez szczepy odporne na leki.

[2] Effect of leaflet asymmetry on the stretching elasticity of lipid bilayers with phosphatidic acid

Dominik Drabik*, Piotr Hinc, Mareike Stephan, Rafaela R. M. Cavalcanti, Aleksander Czogalla*, and Rumiana Dimova*,

Biophys J, 123(16), 2406-2421 (2024).

Impact Factor = 3,2 (2023), Punktacja MEiN = 100 (2024)

Artykuł podsumowuje badania wpływu asymetrii w rozmieszczeniu lipidów w dwuwarstwach lipidowych, zawierających kwas fosfatydowy (PA), na ich właściwości mechaniczne. Autorzy stworzyli symetryczne i asymetryczne błony modelowe, używając gigantycznych jednowarstwowych pęcherzyków (GUV), i badali ich skład oraz właściwości mechaniczne za pomocą różnych technik, takich jak pomiary fluorescencji, potencjału zeta, aspiracja mikropipetą i symulacje dynamiki molekularnej (MD). W pracy porównano dwie metody preparacji błon lipidowych: elektroformowanie do tworzenia symetrycznych pęcherzyków lipidowych (GUV) oraz metodę emulsji odwróconej znanej również jako metoda transferu kropel olejowych (oil-droplet) do tworzenia zarówno symetrycznych, jak i asymetrycznych pęcherzyków lipidowych.

Wyniki pokazały, że skład zewnętrznej warstwy błon jest spójny w obu użytych metodach preparacji, ale charakterystyka wewnętrznej warstwy jest trudniejsza. Błony asymetryczne z mieszaniną POPC:POPA w zewnętrznej warstwie i samym POPC w wewnętrznej warstwie mają podobną elastyczność do błon symetrycznych POPC:POPA, co sugeruje potencjalną insertację POPA do wewnętrznej warstwy podczas formowania się pęcherzyków i tłumienie asymetrii. Odwrotna asymetria składu daje mniej rozciągliwe błony o wyższym module ściśliwości. Dodatkowo, obecność fluorescencyjnie znakowanych lipidów może prowadzić do tworzenia domen żelowych. Symulacje ujawniają zwiększoną grubość błony i zmniejszone sprzężenie międzywarstwowe w obecności oleju.

Podsumowując, badanie podkreśla złożoność czynników wpływających na asymetrię błon GUV i podkreśla potrzebę dalszych badań oraz ulepszenia technik charakteryzacji.

Kluczowe wnioski:

- Przeprowadzone symulacje metodą MD ujawniły, że obecność oktanu (użytego jako model resztek oleju) w dwuwarstwach lipidowych prowadzi do wyraźniejszego rozdzielania maksimów w profilach gęstości łańcuchów acylowych. Sugeruje to, że resztki oleju wpływają na organizację łańcuchów acylowych, wpływając na pozycje lipidów w błonie.
- Zgodnie z oczekiwaniami, symulacje pokazały, że grubość błony wzrasta w obecności resztek oleju.
- Wzrost grubości błony wywołany obecnością oktanu jest związany ze zmniejszeniem sprzężenia międzywarstwowego (interdigitation).

- Obecność oktanu w ilości do około 13% nie wpływa znacząco na moduł ściśliwości błony (KA). Ten wynik jest zgodny z danymi eksperymentalnymi.
- Skład zewnętrznej warstwy błony pęcherzyków był spójny dla obu metod preparacji (elektroformowania i emulsji odwróconej).
- Moduł ściśliwości błon utworzonych metodą elektroformowania był zbliżony do tego, który otrzymano metodą emulsji odwróconej, co sugeruje, że potencjalna obecność oleju nie wpływa znacząco na elastyczność błony.

[3] Investigation of nano and microdomains formed by ceramide 1 phosphate in lipid Bilayers

Dominik Drabik, Mitja Drab*, Samo Penič, Aleš Iglič, and Aleksander Czogalla*,*

Sci. Rep, 13, 18570 (2023).

Impact Factor = 3,8 (2023), Punktacja MEiN = 140 (2023)

Artykuł opisuje badanie nano- i mikrodomen tworzonych przez ceramid-1-fosforan (C1P) w dwuwarstwach lipidowych. Autorzy zastosowali spektroskopię korelacji fluorescencji w osi Z z wariacją punktową (svzFCS) oraz wysokorozdzielczą mikroskopię, a także symulacje MD i Monte Carlo, aby zbadać segregację lipidów w modelowych błonach lipidowych. Wyniki potwierdziły współistnienie nano- i mikrodomen w pęcherzykach lipidowych, podkreślając złożoność organizacji błon biologicznych i rolę C1P w tworzeniu domen.

W artykule wykorzystano symulację metodą MD do analizy współczynników dyfuzji i porównania wyników eksperymentalnych z wynikami symulacji.

Analiza metodą dynamiki molekularnej doprowadziła do potwierdzenia danych eksperymentalnych: obliczone in-silico współczynniki dyfuzji były zgodne z danymi w układach rzeczywistych, co potwierdziło organizację i skład błon identyfikowany w eksperymentach.

Kluczowe efekty badania opisane w pracy:

- Opracowano innowacyjną metodę pomiaru prawa dyfuzji w GUV (gigantycznych pęcherzykach unilamelarnych) za pomocą svzFCS.
- Stwierdzono, że błony POPC:C1P16 tworzą domeny żelowe współistniejące z fazą płynną.
- Symulacje jednoskładnikowej błony C1P16 wykazały niższy współczynnik dyfuzji niż system POPC:C1P16, co wskazywało, że obecność ceramidu obniża współczynnik dyfuzji, sugerując dominujący skład POPC z niewielką frakcją C1P16.

Scil

- Zastosowano model Monte Carlo do badania dynamiki domen, potwierdzając współistnienie nano- i mikrodomen.
- Potwierdzono obecność nanodomen za pomocą mikroskopii SIM² i STED.

[4] Simple Does Not Mean Trivial: Behavior of Phosphatidic Acid in Lipid Mono- and Bilayers

Dominik Drabik* and Aleksander Czogalla,

Int. J. Mol. Sci., 22, 11523 (2021).

Impact Factor = 6,208 (2021), Punktacja MEIN = 140 (2019-2022)

Przedmiotem badań opisanych w artykule autorzy jest zachowanie kwasu fosfatydowego (PA) w mono- i dwuwarstwach lipidowych, wykorzystując zarówno symulacje dynamiki molekularnej (MD), jak i techniki eksperymentalne, takie jak izotermy Langmuira do określania powierzchni przypadającej na jedną cząsteczkę (APL), elastyczności powierzchniowej (Cs) i nadmiaru energii swobodnej mieszania (ΔG_{mix}) oraz spektroskopię szumów migotania (Flicker Noise Spectroscopy) do pomiaru sztywności zginania w dwuwarstwach lipidowych.

Celem było zrozumienie, w jaki sposób PA wpływa na właściwości błon lipidowych. Symulacje MD umożliwiły określenie mikro- i makroskopowych parametrów, takich jak dyfuzja lateralna, grubość błony i analiza defektów.

Kluczowe wnioski płynące z przeprowadzonych symulacji MD:

- Symulacje ujawniły silną interakcję pomiędzy nienasyconymi PA a fosfatydylocholiną (POPC). Z kolei nasycony PA oddziaływał silniej z cholesterolem.
- Obecność PA zwiększała grubość błony i współczynnik dyfuzji lateralnej. Analiza defektów wykazała, że każdy z badanych PA zwiększał frakcję odsłoniętych łańcuchów acylowych.
- Zaobserwowano silny wpływ na właściwości mechaniczne w systemach trójskładnikowych, którego nie można było wytłumaczyć prostą ekstrapolacją parametrów z systemów dwuskładnikowych.

Wyniki badań eksperymentalnych i symulacji MD w tej pracy były w dużej mierze zgodne, co wzmacnia wiarygodność wniosków:

- Dane dotyczące powierzchni przypadającej na jedną cząsteczkę (APL) uzyskane z izoterm Langmuira dobrze korelowały z wynikami symulacji MD, sugerując, że modele symulacyjne wiernie oddawały strukturę i zagęszczenie badanych błon.

- Zarówno symulacje MD, jak i izotermy Langmuira wskazywały na silną interakcję POPA i SAPA z POPC, podczas gdy DPPA preferował cholesterol.
- Zarówno symulacje MD, jak i eksperymenty wykazały, że cholesterol wykazuje działanie kondensujące na błony.
- Wyniki symulacji sztywności zginania zostały potwierdzone eksperymentalnie za pomocą spektroskopii szumu migotania.

[5] A Systematic Approach: Molecular Dynamics Study and Parametrisation of Gemini Type Cationic Surfactants,

Mateusz Rzycki*, Aleksandra Kaczorowska, Sebastian Kraszewski, and Dominik Drabik,
Int. J. Mol. Sci., 22, 10939 (2021).

Impact Factor = 6,208 (2021), Punktacja MEiN = 140 (2019-2022)

Artykuł przedstawia systematyczne podejście do badania i parametryzacji kationowych surfaktantów typu gemini za pomocą dynamiki molekularnej. W ramach badania zbudowano bazę danych 250 surfaktantów gemini, opisano ich parametry strukturalne i przeprowadzono symulacje MD, celem zbadania ich interakcji z modelem błony wewnętrznej *Escherichia coli*. Oceniono wpływ surfaktantów na strukturę, naprężenia i właściwości mechaniczne błony, co pozwoliło na wybór potencjalnych kandydatów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym.

Kluczowe osiągnięcia opisane w pracy:

- Opracowano obszerną bazę danych i zweryfikowano pola siłowe dla 250 surfaktantów typu gemini.
- Zidentyfikowano cztery parametry błonowe, które były silnie zmieniane przez wprowadzenie surfaktantów gemini:
 - Ścisłość (odporności błony na zmiany jej powierzchni w odpowiedzi na zewnętrzne ciśnienie): surfaktanty gemini mogą zarówno zwiększać, jak i zmniejszać ścisłość błony, w zależności od ich struktury.
 - Sztywność zginania (miara odporności błony na zginanie): niektóre surfaktanty gemini wpływają na sztywność błon biologicznych
 - Dyfuzja boczna: surfaktanty gemini mogą zmieniać ruchliwość cząsteczek lipidów w błonie, co wpływa na transport błonowy i interakcje białek.

- Napięcie powierzchniowe: surfaktanty gemini wpływają na napięcie powierzchniowe błony, które jest miarą sił kohezyjnych utrzymujących ją w stanie nienaruszonym.
- W artykule podkreślono, że struktura konkretnego surfaktantu gemini determinuje, jak wpływa on na wymienione parametry błony. Autorzy sugerują również, że właściwości te odpowiadają działaniu przeciwdrobnoustrojowemu surfaktantów.
- Artykuł dostarcza metody in-silico selekcji cząsteczek przeciwdrobnoustrojowych oraz ułatwia porównywanie skuteczności różnych surfaktantów gemini.

[6] *Unraveling the mechanism of octenidine and chlorhexidine on membranes: Does electrostatics matter?*

Mateusz Rzycki*, Dominik Drabik, Kamila Szostak-Paluch, Beata Hanus-Lorenz, and Sebastian Kraszewski,

Biophys J, 120, 3392–3408 (2021).

Impact Factor = 3,699 (2021), Punktacja MEiN = 100 (2019-2022)

Artykuł opisuje badania mechanizmu działania oktenidyny i chlorheksydydny na błony bakteryjne ze szczególnym uwzględnieniem roli oddziaływania elektrostatycznego tych substancji. Wykorzystując różne techniki eksperymentalne, takie jak dynamiczne rozpraszanie światła, spektroskopia fluktuacji pęcherzyków i pomiary wycieku karboksyfluoresceiny, a także symulacje dynamiki molekularnej, autorzy przeanalizowali interakcje tych środków antyseptycznych z modelowymi błonami naładowanymi ujemnie i obojętnymi (NegM - Negatively Charged Membrane, NLM) oraz modelową błoną komórkową bakterii (BacM - Bacteria Mimicking).

Główne wnioski:

- Wyniki sugerują, że selektywność oktenidyny (OCT) nie opiera się na prostych oddziaływaniach elektrostatycznych, ale jest bardziej związana z właściwościami mechanicznymi błony.
- Zgodnie z wynikami przedstawionymi w artykule, oktenidyna (OCT) wpływa na następujące właściwości mechaniczne błony:
 - Sztywność gięcia: Początkowo OCT powoduje wzrost sztywności gięcia (bending rigidity) w błonach obojętnych (NLM). Następnie, przy wyższych stężeniach, sztywność ta spada, co sugeruje utratę integralności błony. W

błonach naładowanych ujemnie (NegM) spadek sztywności obserwowano nawet przy niskich stężeniach OCT.

- Stabilność: Pod wpływem działania OCT w wyższych stężeniach dochodzi do utraty stabilności błony.
- Uporządkowanie błony: OCT zakłóca porządek w błonie, o czym świadczą zmiany w parametrze porządku w badanych systemach membranowych.
- OCT wpływa na mechaniczne właściwości błony w sposób zależny od stężenia, początkowo powodując zmiany w sztywności gięcia, a następnie prowadząc do utraty integralności.

Podsumowując, artykuł ten podważa powszechną opinię, że działanie OCT i CHX polega na prostych oddziaływaniach elektrostatycznych z błonami, i sugeruje, że właściwości mechaniczne błony odgrywają istotną rolę w mechanizmie działania tych substancji.

W starannie przygotowanym i logicznie ustrukturyzowanym autoreferacie dr Drabik dokonał syntetycznego, przekrojowego opisu metodyki, uzyskanych wyników i własnego wkładu do scharakteryzowanych powyżej prac badawczych. Autor skupiły się wokół trzech głównych aspektów błon biologicznych:

- a) opisu i modelowania ich parametrów fizykochemicznych z wykorzystaniem metody dynamiki molekularnej z odniesieniem uzyskanych wyników do układów rzeczywistych
- b) wpływu organizacji przestrzennej błon na ich właściwości fizykochemiczne, w szczególności na występowanie domen i asymetrię błony.
- c) skutków zaburzenia homeostazy błon biologicznych

Posiłkując się dodatkowymi czterema publikacjami swojego autorstwa jak również bogatym piśmiennictwem liczącym 57 pozycji autor w kompleksowy i spójny logicznie sposób zaprezentował zagadnienia będące przedmiotem jego badań na tle aktualnego stanu wiedzy w tym zakresie. Na podkreślenie zasługuje również staranna szata graficzna w tym liczne wykresy i wizualizację ilustrujące omawiane zagadnienia.

Podsumowanie osiągnięć naukowych

Podsumowując dorobek naukowy habilitanta, z którym miałem przyjemność się zapoznać, poniżej przedstawiam cytując za samym autorem wybrane, najistotniejsze w mojej opinii osiągnięcia:

- Zaproponowanie alternatywnego mechanizmu działania oktenidyny i chlorheksydydy opartego na zmianie właściwości błony lipidowej,
- zaproponowanie przodujących grup cząsteczek gemini o największym potencjalnie antybakteryjnym na bazie wykonanej charakteryzacji właściwości błon z wybranymi substancjami typu gemini,
- dokonanie oceny wpływu cząsteczki antybakteryjnej fabimicyny wraz z oceną selektywności na właściwości modeli wewnętrznej i zewnętrznej błony bakteryjnej *Escherichia coli*,
- zbadanie wpływu asymetrii na właściwości błony, w szczególności kompresyjność, z wykorzystaniem techniki mikropipety,
- zaplanowanie symulacji błon podwójnych, charakteryzacja i ocena zmian w homeostazie właściwości błony skutkiem obecności w układzie drugiej błony,
- stworzenie i zastosowanie metodyki do wyznaczenia pola domen w mikroliposomach znakowanych jednym typem barwnika,
- wykorzystanie mikroskopii STED i SIM2 do detekcji nano-domen w mikroliposomach,
- skorelowanie wyników eksperymentalnych z symulacjami Monte Carlo, a w konsekwencji obserwacji i zrozumienia dynamiki i ewolucji domen w układach niejednorodnych,
- opracowanie procedury obliczeniowej uwzględniającej wpływ cząsteczek nie-lipidowych oraz złożonych lipidów typu kardiolipina i lipidA na wyznaczaną wartość pola na lipid (APL),
- zaimplementowanie i usprawnienie wyznaczania defektów z symulacji błon lipidowych,
- zaimplementowanie protokołu do liczenia kompresyjności błon wraz z alternatywnym sposobem liczenia niepewności pomiaru.

4. Wniosek końcowy

Opisany powyżej dorobek naukowy dr inż. Dominika Drabika charakteryzuje się interdyscyplinarnością, łączeniem symulacji numerycznych, technik eksperymentalnych i analizy teoretycznej w celu lepszego zrozumienia złożonych procesów zachodzących w błonach biologicznych. Jego znaczący wkład obejmuje zarówno rozwój metodologii, jak i zastosowanie tych metod do badania istotnych problemów w inżynierii biomedycznej.

W związku z powyższym uważam, że dr inż. Dominik Drabik posiada osiągnięcia naukowe stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria biomedyczna, a zatem spełnia wymogi formalne niezbędne do nadania stopnia doktora habilitowanego zawarte w art. 219 ust. 1 pkt 2, Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Niniejszym popieram wniosek o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr inż. Dominikowi Drabikowi.

