



**Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej
i Parazytologii
Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu**

Pracownia Unikalnych Modeli Aplikacyjnych
ul. Borowska 211, 50 - 556 Wrocław
dr hab.n.med. Adam Junka, prof. uczelni
adam.junka@umw.edu.pl

Wrocław dn. 16.VIII.2023

Dr hab.n.med. Adam Junka, prof. UMW
KiZ Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii
Pracownia Unikalnych Modeli Aplikacyjnych
Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
Recenzent rozprawy doktorskiej mgr Pawła Piszki

Zgodnie z pismem Szanownej Pani Profesor doktor
habilitowanej inżynier Grażyny Grygiewicz,
Przewodniczącej Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna
Politechniki Wrocławskiej, z dnia 6 lipca 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Pawła Piszki pt.: **„Materiały kompozytowe na bazie poli (sebacynianu gliceryny) do potencjalnego wykorzystania w inżynierii tkankowej kości”**

Praca doktorska magistra Pawła Piszki wpisuje się w aktualny i dynamicznie rozwijający się trend naukowo-aplikacyjny mający na celu opracowanie biomateriałów mogących zastąpić uszkodzoną, na skutek różnych przyczyn urazowych, infekcyjnych bądź zwyrodnieniowych, tkankę kostną. Wraz z min. starzeniem się społeczeństw krajów rozwiniętych, zmianem stylu życia, epidemią otyłości oraz cukrzycy, a także wzrostem liczby infekcji wywoływanych przez drobnoustroje antybiotyko-oporne, częstotliwość występowania uszkodzeń kostnych narasta i stanowi istotny problem medyczny oraz socjo-ekonomiczny. Dlatego też problem naukowy podjęty przez Doktoranta mający na celu określenie właściwości fizycznych i biologicznych poli (sebacynianu gliceryny) w aspekcie zastosowania tego polimeru jako biomateriału w inżynierii tkankowej jest odzwierciedleniem istotnego zapotrzebowania społecznego i próbą wyjścia naprzeciw temu zapotrzebowaniu. W mojej opinii zarówno koncepcja pracy, przeprowadzone badania z wykorzystaniem zróżnicowanej metodologii oraz

uzyskane wyniki, w pełni spełniają wymogi stawiane pracom doktorskim. Nie ma jednak prac w pełni doskonałych, zawsze natomiast istnieje pole do ulepszenia określonych elementów dzieła oraz nauki. Poniższe uwagi, pytania oraz prośby o odniesienie się mają charakter życzliwy, jednakże proszę o ustosunkowanie się do tych, przy których jest to wprost wskazane. Pozostałe uwagi mają charakter rekomendacji.

STRESZCZENIE I WSTĘP: Struktura pracy doktorskiej mgr Piszki ma charakter klasyczny i rozpoczyna się od postawienia tez i hipotez badawczych oraz streszczenia. Jest ono czytelne i pozwala wprowadzić czytelnika w zakres i znaczenie wykonanych prac.

Wstęp pracy doktorskiej stanowiący przegląd literatury badawczej jest zwięzły i liczy 19 stron, zawarto w nim adekwatną i w zdecydowanej większości aktualną literaturę naukową oraz dotyczący tematu aktualny stan wiedzy. Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na następujące kwestie:

Strona 12, rysunek 1: Skąd wynika fakt, że w roku 2022 opublikowano jedynie 7 prac dotyczących poli (sebacynianu gliceryny)? Dlaczego Doktorant nie przedstawił również danych z roku 2023? Proszę się ustosunkować.

Strona 13, L13: Doktorant myli szczep z gatunkiem. Prawidłowe sformułowanie powinno brzmieć „z drożdży należących do gatunku *Candida antarctica*”.

Strona 15, L2. Jeśli doktorant pisze „odmienne właściwości” to powinien napisać od czego są one odmienne. W omawianym zdaniu powinien zatem użyć słowa „zróżnicowane”.

Strona 15, L8: Powinno unikać się określeń wartościujących. Nie powinno pisać się :” inną ciekawą właściwością fizykochemiczną hydrożeli...” To czy, ta właściwość jest ciekawa czy nie, należy zostawić czytelnikom pracy doktorskiej. Analogicznie pisze doktorant na stronie 24 opisując zastosowanie PGS w kardiologii, czy na stronie 25 – opisując zastosowanie PGS w klejach tkankowych.

Doktorant pisze: „Inną ciekawą właściwością fizykochemiczną hydrożeli jest ich tiksotropia” i nie wyjaśnia, dlaczego ta właściwość powinna wzbudzić zainteresowanie odbiorcy. Zamiast tego, w następnym zdaniu przechodzi do kolejnego zagadnienia, związanego z biokompatybilnością. Poproszę zatem Doktoranta o wyjaśnienie, dlaczego wyróżnił pamięć kształtu hydrożeli jako właściwość istotną z punktu widzenia zagadnień omawianych w jego pracy doktorskiej.

Strona 17, L25-29: Jak rozumieć to rozbudowane stwierdzenie? Nie mogę się z nim zgodzić. Można porównywać określone parametry jednego typu próbki materiałowej na różnych liniach komórkowych, można porównywać różne typy próbek na jednej linii komórkowej, a

także próbki wytwarzane różnymi metodami zarówno na jednej jak i na różnych typach linii komórkowych. Co ma oznaczać zdanie zaczynające się od słowa „Alternatywnie...”. Proszę doktoranta o objaśnienie omawianego paragrafu. Dodatkowo – stosowanie formy osobowej (w tym wypadku „możemy”) jest zastanawiające, ponieważ nie wiadomo kogo doktorant uprawnia do wykonania analiz porównawczych z wykorzystaniem linii komórkowych, a kogo z tych analiz wyklucza. Sugeruję stosowanie formy bezosobowej „można”.

Str.20. Doktorant wyjaśniając zagadnienia związane z modyfikacjami chemicznymi PGS w celu wykorzystania technologii druku 3D do wytwarzania określonych form z tego polimeru pisze: „ Jednym z przykładów takiej adaptacji jest praca Singh i wsp....”. Czy mam rozumieć, że praca wymienionego zespołu badaczy poddana została adaptacji z wykorzystaniem druku 3D?

Str.23.L12: „dobra” kompatybilność czy „wysoka” kompatybilność? To są pojęcia z zakresu normy. O jakim poziomie kompatybilności pisze doktorant?

Str.23 L13: Doktorant miał zapewne na myśli termin „linia (hodowlana)”, a nie „szczep szczurów Wistar”?

Strona 25: Doktorant pisze: „Innymi aplikacjami są nici... oraz zastosowanie w medycynie opatrunkowej”. Nici same w sobie nie są aplikacją; co więcej „aplikacja” oraz „zastosowanie” to terminy bliskoznaczne. Myślę, że całe to zdanie mogłoby być czytelniejsze, gdyby na przykład brzmiało: „Biomateriały na bazie PGS są również wykorzystywane do produkcji biodegradowalnych nici chirurgicznych oraz opatrunków”. Jest umiejętnością niezwykle istotną dla przyszłego doktora nauk, aby potrafił wyrazić swe myśli w sposób czytelny i jednoznaczny. Pozwoli mu to na nie tylko uniknięcie niekończących się potyczek z recenzentami jego publikacji, ale także na sprawną współpracę w obrębie swojego zespołu badawczego. Inne przykładowe błędy stylistyczne:

Strona 16, L27, strona 28: „literatura sugeruje...”

Strona 16, L18: powtórzenia: „błędy dynamiczne...dynamicznie”

Strona 16, L15: „na drodze mechanicznej dzięki...mechanotransdukcji”

Strona 26, L6-L9. Nie mogę się w pełni zgodzić z tym stwierdzeniem. Idealny materiał dedykowany inżynierii tkankowej kości powinien również chronić przed zakażeniem miejsca operowanego. Proszę o ustosunkowanie się Doktoranta do mojej opinii.



MATERIAŁY I METODY: Część „Materiały i Metody” zaczynająca się od strony 31 jest klarowna. Nie powinna nastęrczyć problemu innym zespołom badawczym mającym na celu odtworzenie eksperymentów przeprowadzonych przez Doktoranta. Chciałbym jedynie, żeby Doktorant ustosunkował się do następujących kwestii:

- a) W materiałach i metodach nie przedstawiono metody statystycznej oraz oprogramowania służącego do analizy statystycznej. Natomiast w części „Wyniki” znajdują się zapisy (np. strona 103, 104, 106 i inne) świadczące o tym, że taką analizę prowadzono. Proszę o ustosunkowanie się.
- b) Strona 38: nie podano referencji dla oprogramowania ImageJ ani specyficznych wtyczek (pluginów), które posłużyły do oszacowania średnic porów. Nie jest dla mnie do końca jasne czy mierzono jedną czy np. dwie średnice, czy np. średnicę Ferretta. Proszę o ustosunkowanie się.

WYNIKI: Od strony 51 Doktorant przedstawia wyniki badań. Również ta część manuskryptu przedstawiona jest przeważająco klarownie i ściśle koreluje z danymi opisanymi w części Materiały i Metody.

Mam jednak następujące pytania do Doktoranta:

- a) **Rysunek 28** przedstawia „reprezentatywny por” PGS lub PGS/Hap. Oba typy porów na zdjęciach mają nieregularny kształt. Chciałbym więc powrócić do pytania, jak mierzona była ich średnica. Z zapisu w Materiałach i Metodach wynika, że Doktorant (niezależnie od sposobu pomiaru i wybrania długości, którą uznał za średnicę) wykonywał pomiar „ręcznie” (mierząc samodzielnie średnice). Dlaczego Doktorant nie zdecydował się na wykorzystanie pluginu w oprogramowaniu ImageJ, które umożliwiłoby mu zliczenie średnic nawet kilku tysięcy porów? Dałoby to faktyczny ogląd na ich wielkość. Proszę o ustosunkowanie się.
- b) **Strona 103.** Proszę o wyjaśnienie, dlaczego cytokompatybilność dla określonych typów próbek była o np. 27% wyższa (127%) względem układu kontrolnego.

Doktorant w obrębie części wynikowej prowadzi jednocześnie dyskusję nad znaczeniem uzyskanych przez siebie wyników. Wykazuje się wysoką zdolnością do syntetycznego opisanie uzyskanych przez siebie danych, porównania ich z analogicznymi przypadkami opisanymi w literaturze przedmiotu, a następnie wyciągnięcia prawidłowych wniosków płynących z

porównania. W przypadku, gdy dla uzyskanych wyników brak jest poparcia w literaturze przedmiotu, wysnuwa prawidłowe wnioski bądź stawia racjonalne hipotezy. Jest natomiast jeden aspekt, którego w mojej opinii brakuje w niniejszej pracy doktorskiej. Przy analizie prezentowanej pracy doktorskiej, nie można nie dostrzec głębokości i precyzji badań dotyczących właściwości chemicznych, i fizycznych biomateriału PGS. Doktorant dokładnie zbadał także jego cytotoksyczność oraz zdolność komórek eukariotycznych do zasiedlania tego biomateriału, co jest kluczowe w kontekście jego potencjalnego zastosowania w medycynie regeneracyjnej. Jednakże, jednym z kluczowych aspektów, który nie został uwzględniony w pracy, jest kwestia mikrobiologiczna. Z punktu widzenia klinicznego, biomateriały stosowane w leczeniu ubytków kości narażone są na kontakt z licznymi patogenami, które mogą prowadzić do infekcji w miejscu wszczepienia. O ile badania nad właściwościami fizykochemicznymi biomateriału są niezbędne, o tyle aspekt mikrobiologiczny stanowi równie ważną domenę badań, gwarantując bezpieczeństwo pacjentów. W literaturze naukowej często można spotkać propozycje rozwiązań, w których do biomateriałów inkorporuje się antybiotyki czy inne substancje o działaniu przeciwbakteryjnym, aby zapewnić ochronę przed ewentualnym rozwojem infekcji. Takie podejście jest kluczowe zwłaszcza w kontekście rosnącej oporności bakterii na antybiotyki i pojawiania się wielolekoopornych szczepów. Rozumiem, że zakres każdej pracy doktorskiej jest ograniczony i nie można w niej zawrzeć wszystkich możliwych badań eksperymentalnych. Niemniej jednak, w sekcji dyskusji warto byłoby odnieść się do problematyki mikrobiologicznej, wskazując na potencjalne zagrożenia oraz na konieczność przyszłych badań w tym kierunku. Doktorant powinien mieć to na względzie również podczas składania do recenzji publikacji powstałej na bazie danych zaprezentowanych w pracy doktorskiej.

Po analizie rozprawy doktorskiej mgr Pawła Piszki stwierdzam, że przedmiot ocenianej rozprawy doktorskiej stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a rozprawa prezentuje wysoką wiedzę Doktoranta w dyscyplinie Inżynieria Chemiczna.

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska pana mgr Pawła Piszki spełnia warunki określone w art.187 ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 (Dz.U.z2018 r.poz.1668z późn.zmianami) i wnoszę o dopuszczenie pana mgr Pawła Piszki do dalszych etapów postępowania.

Decyzję o wyróżnieniu pracy doktorskiej pana magistra Pawła Piszki pozwolę sobie podjąć po zapoznaniu się odpowiedziami na recenzje przedstawionymi podczas publicznej obrony pracy doktorskiej.

Z Wyrazami Szacunku,

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I ZAKŁAD MIKROBIOLOGII
FARMACEUTYCZNEJ I PARAZYTOLOGII
dr hab. Adam Junka, prof. uczelni

Dr hab.n.med.Adam Junka, prof. UMW we Wrocławiu