

dr hab. Elżbieta Kamysz, prof. UG  
e-mail: elzbieta.kamysz@ug.edu.pl

Gdańsk, 10.02.2023 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Kamila Pajora**  
**pt.: „Modyfikacja krystalicznych fosforanów wapnia w celu uzyskania biomateriałów**  
**o skutecznej aktywności antybakteryjnej”**

Praca doktorska mgr Kamila Pajora została wykonana pod kierunkiem dr hab. Joanny Kolmasy oraz dr Łukasza Pajchela w Zakładzie Chemii Analitycznej i Biomateriałów Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Przedmiotem rozprawy było opracowanie porowatego materiału zbudowanego z fosforanów wapnia, który służyłoby jako nośnik dla substancji bakteriobójczych do bezpośredniego dostarczenia ich do tkanki kostnej.

Podstawą ubiegania się o stopień naukowy doktora jest spójny tematycznie cykl trzech wieloautorskich prac (od 3 do 7 współautorów) opublikowanych w latach 2019-2022 oraz jednego manuskryptu, który jest na etapie przygotowania. Opublikowane prace (2 oryginalne i 1 przeglądowa) zostały wydane w trybie „open access”, w czasopiśmie międzynarodowych o wysokim współczynniku oddziaływania (IF): International Journal of Molecular Science (MDPI) i Materials (MDPI). Sumaryczny impact factor dla tych prac wynosi 15,189 wg bazy Web of Science i odpowiada 420 pkt. wg wykazu ministerialnego, co świadczy o wysokim poziomie zrealizowanych badań. Warto podkreślić fakt, że Doktorant we wszystkich pracach jest pierwszym autorem, co wskazuje na Jego znaczny wkład w ich powstanie oraz znajduje potwierdzenie w opisach udziału Autora w wykonanych badaniach zamieszczonych w recenzowanej rozprawie. Pan mgr Kamil Pajor uczestniczył w opracowaniu koncepcji badań, interpretacji wyników, projektował i wykonywał syntezy, prowadził badania fizykochemiczne otrzymanych materiałów, dokonywał przeglądu literatury, oraz zajmował się przygotowaniem manuskryptów.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy poprzedzone są 95 stronicowym opracowaniem zawierającym następujące rozdziały: spis treści, cykl publikacji będących podstawą rozprawy, opis dodatkowej aktywności pana Kamila Pajora, wykaz skrótów i akronimów, streszczenia pracy w języku polskim oraz angielskim, wstęp, cele pracy, materiały i metody badawcze, wyniki i dyskusja, podsumowanie i wnioski, elementy nowości naukowej i bibliografia. Całość uzupełniają oświadczenia współautorów prac oraz pana Kamila Pajora.

We wstępie Doktorant porusza problemy współczesnej chirurgii związane z występowaniem zakażeń miejsca operowanego oraz opisuje budowę fosforanów wapnia i możliwości ich wykorzystania jako nośników substancji czynnych w chirurgii tkanki kostnej. Charakteryzuje wybrane leki o działaniu przeciwdrobnoustrojowym takie jak: ciprofloksacyna i gentamycyna oraz jony srebra i galu, które planuje wprowadzać do zaprojektowanych przez siebie materiałów. Tekst wstępu jest napisany jasno i klarownie, w sposób zwięzły prezentując treści niezbędne do zrozumienia dalszej części rozprawy. Następnie Doktorant przedstawia cele pracy, do których konsekwentnie odnosi się w przy omawianiu wyników w kolejnych rozdziałach. Po dyskusji otrzymanych wyników formułuje trafne wnioski. Wartość przedstawionych wyników w recenzowanej pracy doktorskiej oceniam wysoko.

W pierwszej publikacji przedstawiono rolę hydroksyapatytu i fluorapatytu, czyli fosforanów wapnia w stomatologii zachowawczej i chirurgii dentystrycznej oraz dokonano przeglądu najnowszych osiągnięć w zakresie zastosowania tych materiałów. Chociaż od wydania publikacji minęło dopiero dwa i pół roku to cieszy się ona dużym zainteresowaniem wśród badaczy, o czym świadczy bardzo wysoka liczba jej cytowań, która wg bazy Web of Science wynosi 88.

Przedmiotem kolejnej pracy było otrzymanie proszków hydroksyapatytowych (HA) modyfikowanych jonami srebra i/lub galu dwiema metodami: mokrą i suchą. Materiały zsyntetyzowane metodą mokrą wykazywały korzystniejsze parametry niż te uzyskane metodą suchą. Charakteryzowały się znacznie mniejszymi kryształami o regularnej budowie, dodatkowo wykazując lepszą wydajność podstawiania jonami srebra oraz bardzo zbliżony stosunek molowy do hydroksyapatytu stechiometrycznego. Wydajność podstawienia HA jonami srebra była wyższa w przypadku proszków, do których wprowadzano większe ilości wspomnianego jonu. Z kolei wszystkie proszki domieszkowane galem osiągały podobną wydajność wprowadzenia jonu, bliską 100%, ponadto jony galu obniżały wydajność wprowadzania jonów srebra do HA. Większość materiałów otrzymanych metodą mokrą okazała się nie wykazywać działania toksycznego lub było ono obecne przy najwyższym stężeniu próbki, w przeciwieństwie do metody suchej. Wprowadzenie zarówno jonów srebra

jak i galu do struktury HA prowadziło do otrzymania materiałów o aktywności przeciwbakteryjnej w teście dyfuzyjno-krażkowym wobec bakterii *Pseudomona fluorescences*. ale większej w przypadku proszków o wyższej zawartości jonów srebra.

Celem trzeciej z prac wchodzących w skład cyklu było opracowanie porowatych granul zbudowanych z proszków hydroksyapatytowych domieszkowanych jonami srebra lub galu. Doktorant otrzymał trzy rodzaje granul: mikrogranule (AgM, GaM) o średnicy 0,2-1 mm z proszku HA domieszkowanego jonami srebra lub galu (Ag-HA, Ga-HA) z użyciem emulsji kamfenowej; granule kompozytowe (AgT, GaT) o średnicy 3-4 mm odpowiednio z proszków Ag-HA i Ga-HA z wykorzystaniem alginianu sodu oraz granule kompozytowe o średnicy 3-4 mm (AgMT, GaMT) zbudowane z mieszaniny proszku HA oraz wcześniej uzyskanych mikrogranul (AgM i GaM). Jako materiał referencyjny wykorzystane zostały granule kompozytowe zawierające proszek HA i alginianu sodu. Do otrzymywania wszystkich granul Doktorant wykorzystywał proszki otrzymane metodą moką. Mikrogranule charakteryzowały się gorszą strukturą porowatą od granul kompozytowych, co w znaczącym stopniu wpływało niekorzystnie na wyniki badań uwalniania czy aktywności przeciwbakteryjnej. Sytuacja wyglądała inaczej, gdy te same mikrogranule zostały wprowadzone do struktury granul kompozytowych (AgM, GaM). W tym wypadku można było zauważyć poprawę stopnia porowatości w otrzymanych granulach, jednakże w porównaniu do granul kompozytowych AgT i GaT parametry te nadal były gorsze. Całkowita ilość uwolnionych jonów srebra i galu z granul w danym czasie była bardzo niska w przypadku wszystkich materiałów. Ponadto w granulach trzeciego typu podczas badania uwalniania jonów obserwowano opóźnione pojawienie się ich w próbce (dopiero po 12 h).

W ostatniej z prac tworzących cykl Doktorant przeprowadził syntezę dwufazowych granul kompozytowych z mieszaniny proszków fosforanowo-wapniowych (HA, bruszyt – DCPD, trójfosforany wapnia typu  $\alpha$  i  $\beta$ :  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP) w proporcji 1:1, gdzie jeden z nich zawierał jony srebra a drugi galu stosując technikę sieciowania z alginianem sodu, która w uprzednio przeprowadzonych badaniach (publikacja 3) prowadziła do otrzymania materiałów o najkorzystniejszych parametrach. Do granul dwufazowych wprowadzał ciprofloksacynę, a część z nich powlekał polikaprolaktonem (PCL). Morfologia granul była zależna od rodzaju proszków fosforanowo-wapniowych użytych do ich otrzymywania. W badaniach uwalniania jonów srebra i galu z otrzymanych granul ilości oznaczanych jonów były niskie. Natomiast w przypadku materiału z ciprofloksacyną całkowita ilość uwolnionej substancji mieściła się w granicach 38-55%. Pokrycie granul PCL prowadziło do nieznacznego zmniejszenia całkowitej ilości uwolnionej ciprofloksacyny.

Działanie toksyczne w stosunku do fibroblastów wykazywały jedynie granule zawierające Ag-DCPD (G1 i G2), zanikające po pierwszym rozcieńczeniu próbki. Większość granul wykazywała aktywność przeciwbakteryjną wobec bakterii *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli*, przy czym najniższą aktywność obserwowano w przypadku granul G1 i G2. Najkorzystniejsze cechy spośród badanych materiałów wykazywały granule G5 (Ag-HA i Ga- $\beta$ -TCP).

Pracę doktorską mgr Kamila Pajora przeczytałam z dużym zainteresowaniem. Zawiera nieliczne błędy oraz usterki edycyjne. Z obowiązku recenzenta poniżej wymieniam przykładowe z nich:

- Zastosowano różne symbole dla materiałów, które były opisywane zarówno w cyklu publikacji wchodzącym w skład rozprawy jak i poprzedzającym go opracowaniu, co utrudniało lekturę rozprawy. Przykładowo granule kompozytowe o średnicy 3-4 mm otrzymane odpowiednio z proszków Ag-HA i Ga-HA z wykorzystaniem alginianu sodu w opracowaniu oznaczono symbolami AgKP i GaKP a w publikacji AgT i GaT.
- Na str. 63 w tabeli 10 – niewłaściwie przypisano wartości IC<sub>50</sub> jednemu z proszków otrzymanych metodą suchą. Podobna sytuacja występuje w tabeli 15 na str. 84.
- Na rysunkach 13 i 14 (str. 80-83) oznaczono innymi symbolami granule niż w tekście opisującym wyniki badania uwalniania jonów srebra, galu i ciprofloksacyny.
- Brak konsekwencji w sposobie zapisu tytułów czasopism w spisie literatury (np. pozycje 15, 22 i 24).

Podsumowując moją recenzję stwierdzam, że praca zawiera istotne elementy nowości naukowej: zsyntezowano nowy proszek hydroksyapatytowy zmodyfikowany jonami galu i srebra oraz granule kompozytowe zbudowane z proszku hydroksyapatytowego i mikrogranul modyfikowanych wspomnianymi jonami. Otrzymano dwufazowe granule zbudowane z mieszaniny dwóch różnych proszków fosforanowo-wapniowych, jednego zmodyfikowanego jonami galu oraz drugiego zawierającego jony srebra. Do części granul wprowadzono ciprofloksacynę lub gentamycynę, a także pokryto je polimerem biodegradowalnym. Scharakteryzowano uzyskane materiały przeprowadzając szereg badań fizykochemicznych oraz biologicznych.

Pan Kamil Pajor jest współautorem 5 publikacji w czasopismach z bazy JCR (w 4 jest pierwszym autorem, a 3 związane są z tematyką recenzowanej pracy). Ponadto wyniki swoich prac prezentował na konferencjach krajowych i międzynarodowych w formie 8 plakatów i wystąpienia ustnego. Brał udział w realizacji projektu badawczego z funduszy zewnętrznych.

Był opiekunem naukowym pracy magisterskiej. Za współautorstwo publikacji dotyczącej otrzymywania granul kompozytowych – nośników rizedronianu sodu i jonów selenu otrzymał nagrodę naukową trzeciego stopnia WUM.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, iż przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Kamila Pajora do dalszych etapów przewodu doktorskiego i biorąc pod uwagę wartość wyników badań zawartych w recenzowanej pracy wnioskuję o wyróżnienie.

*Elżbieta Komysz*