

dr hab. inż. Joanna Mystkowska, prof. PB
Zakład Biomateriałów i Inżynierii Wyrobów Medycznych
Instytut Inżynierii Biomedycznej
Politechnika Białostocka
ul. Wiejska 45c
15-351 Białystok

Białystok, 14.02.2023 r.

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr farm. Kamila Pajora pod tytułem
„Modyfikacja krystalicznych fosforanów wapnia w celu uzyskania biomateriałów
o skutecznej aktywności antybakteryjnej” wykonanej pod opieką
promotor dr hab. n. farm. Joanny Kolmas
oraz promotora pomocniczego dr n. med. Łukasza Pajchela
i opracowana na zlecenie**

Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Podstawą formalną recenzji jest pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Pana Prof. dr hab. n. farm. Grzegorza Nałęcz-Jaweckiego z dnia 16.12.2022 r.

1. Ogólna charakterystyka pracy

Wzrost liczby wykonywanych zabiegów chirurgicznych związany z leczeniem chorób kości przekłada się na zwiększone zapotrzebowanie na nowe grupy modyfikowanych biomateriałów. Coraz częściej pojawia się bowiem potrzeba zastąpienia naturalnej tkanki kostnej odpowiednim wielofunkcyjnym biomateriałem. Jednak takie operacje ortopedyczne niosą ze sobą ryzyko wystąpienia zakażenia miejsca operowanego, co przekłada się na spowolnienie procesu wyleczenia pacjenta. Sprawę dodatkowo utrudnia fakt słabego ukrwienia tkanki kostnej. Wymusza to konieczność stosowania wysokich dawek antybiotyków, które często przynoszą wiele działań niepożądanych. Trwają więc prace mające na celu poszukiwanie materiałów, które mogą pełnić rolę nośników do dostarczania leków do słabo unaczynionych tkanek, takich jak kość. Materiałami znajdującymi szerokie zastosowanie w tym zakresie są fosforany wapnia (CaPs), które są wykorzystywane w chirurgii ortopedycznej i stomatologii w postaci cementów,

rusztowań, granulatów czy powłok. Z analizy danych literaturowych wynika, że na rynku medycznym brakuje porowatych materiałów opartych o fosforany wapnia, które są nośnikiem dla substancji bakteriobójczych do bezpośredniego dostarczenia ich do tkanki kostnej. Wybór problematyki rozprawy doktorskiej należy więc uznać za trafny z naukowego i użytecznego punktu widzenia.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska oparta jest na cyklu monotematycznych czterech publikacji naukowych dotyczących podziału i charakterystyki fosforanów wapnia, ich zastosowania jako biomateriałów implantacyjnych oraz przedstawienia zastosowanych metod syntezy i uzyskanych wyników badań właściwości mechanicznych, fizykochemicznych i biologicznych dla otrzymanych modyfikowanych materiałów. Rozprawa doktorska liczy 193 strony i składa się z: wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską, zestawienia dodatkowej aktywności naukowej, wykazu stosowanych skrótów i akronimów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstępu do pracy, celów pracy, omówienia materiałów i metod badań, przedstawienia wyników badań i dyskusji w oparciu o prace składające się na rozprawę doktorską, podsumowania i wniosków, elementów nowości w pracy, 120 pozycji piśmiennictwa (w zdecydowanie przeważającej mierze anglojęzycznych) wymienionych według kolejności cytowania w tekście pracy oraz pełnych tekstów publikacji stanowiących rozprawę doktorską i informacji o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu każdego z nich w przygotowanie pracy oraz oświadczenia o zgodzie na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej mgr farm. Kamila Pajora.

Trzy publikacje przedstawione do oceny ukazały się w wysoko punktowanych recenzowanych czasopismach. Jedna praca (P1) zamieszczona w *Materials* (IF₂₀₁₉=3,057, punktacja wg listy MEiN=140 pkt., 2019 r.) jest obszerną pracą przeglądową, a pozostałe dwie prace (P2, P3) opublikowane w *International Journal of Molecular Sciences* (IF₂₀₂₀=5,924, IF₂₀₂₁=6,208; punktacja wg listy MEiN=140 pkt.) są pracami oryginalnymi. Z kolei czwarta praca nie została jeszcze opublikowana i nie ma informacji, czy zostało już wybrane czasopismo, do którego manuskrypt będzie wysłany. Sumaryczny IF cyklu prac wynosi IF=15,189, a łączna liczba punktów wg listy MEiN wynosi 420 pkt. We wszystkich pracach Autor był pierwszym autorem. Procentowy wkład Doktoranta w przygotowanie wyżej wymienionych publikacji wynosi odpowiednio 60%, 50%, 40% i 45%, co zostało potwierdzone za pomocą podpisanych przez wszystkich współautorów oświadczeń z podaniem dokładnego charakteru udziału. Układ rozprawy, jak i zakres dobranej literatury, pozwalają wnosić o właściwym usystematyzowaniu podjętych prac i dobrym przygotowaniu merytorycznym



Doktoranta do podjęcia tematyki badawczej. Proporcje objętościowe poszczególnych części dysertacji należy uznać za prawidłowe.

Należy podkreślić, że przedstawiony dorobek naukowy Doktoranta, oprócz opisanych powyżej prac obejmuje ponadto 2 publikacje naukowe (2017 r. i 2018 r.) niewłączone do rozprawy doktorskiej, których sumaryczny IF=6,431, a sumaryczna liczba punktów wg listy MEiN wynosi 55 pkt. Dodatkowo, mgr farm. Kamil Pajor wziął aktywny udział w 8 konferencjach (krajowych i międzynarodowych), podczas których prezentował wyniki swoich badań w formie wystąpienia ustnego lub w postaci sesji plakatowych. Pełnił rolę opiekuna naukowego (2018 r.) w jednej pracy magisterskiej, dotyczącej tematyki modyfikowanych fosforanów wapnia. W roku 2018 otrzymał nagrodą naukową III stopnia WUM za współautorstwo publikacji dotyczącej otrzymywania granul kompozytowych. Podsumowując, biorąc pod uwagę etap realizacji pracy doktorskiej, jest to bogaty dorobek naukowy.

Badania w pracy były finansowane w ramach grantu NCN Sonata Bis 6: *Synteza oraz badania fizykochemiczne i biologiczne krystalicznych fosforanów wapnia podstawionych różnorodnymi jonami* (UMO-2016/22/E/ST5/00564), kierowanym przez dr hab. n. farm. Joannę Kolmas.

2. Ocena części literaturowej

We wstępie pracy Autor przedstawia dane statystyczne z zakresu operacji chirurgicznych, w tym operacji ortopedycznych obejmujących wszczepienie endoprotez stawów czy wypełnianie ubytków kostnych. Zwraca przy tym uwagę na występowanie zakażeń miejsca operowanego, należących do najczęstszych zakażeń szpitalnych, wywołujących wiele powikłań i w rezultacie wpływających na wydłużenie czasu hospitalizacji pacjenta. Jednym ze sposobów zapobiegania takim sytuacjom mogą być odpowiednie nośniki leków do bezpośredniego wprowadzania antybiotyku do tkanki kostnej. Główną uwagę skupia na możliwości wykorzystania fosforanów wapnia. Doktorant dokładnie charakteryzuje przykładowe ortofosforany wapnia o znaczeniu dla medycyny. Podkreśla przy tym ich właściwości w kontekście wysokiej biokompatybilności z tkanką kostną i stabilnością w organizmie. Te zagadnienia szczegółowo rozwija w opublikowanej pracy P1, gdzie szczególną uwagę skupia na wykorzystaniu hydroksyapatytu i fluoroapatytu w stomatologii. W rozprawie doktorskiej, Autor zwraca także uwagę na możliwość podstawień jonowych w fosforanach wapnia. Następnie przedstawia wpływ domieszkowania różnymi jonami na sumaryczne właściwości otrzymanego modyfikowanego fosforanu wapnia w kontekście jego działania i możliwości zastosowania takiego biomateriału. W dalszej części wstępu, Doktorant opisuje wpływ srebra i galu na właściwości fosforanów

wapnia. Skupia również uwagę na możliwości wykorzystania fosforanów wapnia jako nośników substancji czynnych. W tym obszarze charakteryzuje dwa chemioterapeutyki - gentamycynę i ciprofloksacynę oraz przedstawia mechanizmy ich działania antybakteryjnego, opierając się na najnowszych doniesieniach literaturowych.

Oceniając wstęp na podstawie przeglądu piśmiennictwa uważam, że jego zakres jest logiczny i uzasadniany podjętą tematyką badawczą. Przedstawiona analiza literaturowa dowodzi dobrego przygotowania teoretycznego Doktoranta do zrealizowania założonych prac badawczych i posłużyła Autorowi do sformułowania celów i zakresu badawczego oraz doboru metod badań do realizacji prac oryginalnych.

3. Ocena merytorycznej części rozprawy

W tej części dysertacji, Doktorant określa szczegółowe cele pracy, charakteryzuje materiały i metody badań oraz w sposób skrótowy omawia uzyskane wyniki badań (przedstawione w pracach P2, P3 i P4) dla otrzymanych różnych proszków fosforanowo-wapniowych podstawionych jonami o działaniu antybakteryjnym i przeprowadza ich dyskusję. Pewnym mankamentem rozprawy doktorskiej jest brak zdefiniowanej tezy pracy. W związku z powyższym pojawia się pytanie, jaki problem naukowy był podjęty w pracy.

W pracy P2, zatytułowanej „Modifications of Hydroxyapatite by Gallium and Silver Ions - Physicochemical Characterization, Cytotoxicity and Antibacterial Evaluation” (opublikowana w *International Journal of Molecular Sciences*, 2020 r.) Autor przedstawia metody syntezy proszków hydroksyapatytowych modyfikowanych jonami srebra i galu o zróżnicowanej zawartości oraz omawia uzyskane wyniki badań właściwości fizykochemicznych (analiza elementarna, analiza strukturalna, analiza wielkości i morfologii kryształów), badań biologicznych (właściwości cytotoksyczne i antybakteryjne) dla zsyntezowanych materiałów. Wyniki badań wskazują, że proszki zsyntezowane metodą mokrą prezentują korzystniejsze parametry, tj. mniejsze kryształy o regularnej budowie, lepszą wydajność podstawienia jonami srebra, bardzo zbliżony stosunek molowy do stechiometrycznego, w porównaniu do proszków zsyntezowanych metoda suchą. Na podstawie rezultatów uzyskanych w pracy P2, w kolejnych badaniach Doktorant zastosował metodę mokrą do syntezy proszków.

W pracy P3, pt. „Antibacterial and Cytotoxicity Evaluation of New Hydroxyapatite-Based Granules Containing Silver or Gallium Ions with Potential Use as Bone Substitutes” (opublikowana w *International Journal of Molecular Sciences*, 2022 r.) Doktorant przedstawił wyniki badań fizykochemicznych i biologicznych dla różnych rodzajów porowatych granul

zawierających jony srebra lub galu. Ponadto wykazał, że materiały modyfikowane jonami Ag^+ i Ga^{3+} potwierdziły silniejsze działanie antybakteryjne biomateriału wzbogaconego o jony srebra.

W nieopublikowanej pracy P4, pt. "Ciprofloxacin-loaded composite granules enriched in silver and gallium ions – physicochemical properties and antimicrobial activity" przeprowadzono analizę właściwości fizykochemicznych i biologicznych granul wzbogaconych dodatkowo o ciprofloksacynę. Badania polegały m.in. na oznaczaniu uwalniania jonów srebra i galu oraz ciprofloksacyny, a także ocenie właściwości cytotoksycznych i antybakteryjnych otrzymanych materiałów. Wyniki uzyskanych badań wskazują, że dobór różnych CaP wpływa na morfologię granul oraz ich właściwości biologiczne.

Pewną niedogodnością w analizie wyników badań zamieszczonych w rozprawie doktorskiej jest brak odniesienia przy rysunkach i tabelach do publikacji P2, P3, P4 będących podstawą postępowania doktorskiego. Analiza uzyskanych wyników badań i przeprowadzonych obserwacji rodzi także pytanie, czy opracowane i przebadane materiały mają szansę być wykorzystane w praktyce klinicznej? W podsumowaniu rozprawy doktorskiej brakuje bowiem informacji, na jakie konkretnie aplikacje mogą być stosowane opracowane w ramach pracy rozwiązania. Czy Doktorant dokonał wstępnego oszacowania kosztów takiego materiału i czy byłoby ono konkurencyjne cenowo do obecnie stosowanych materiałów?

Trudno wskazywać na niedociągnięcia w przedstawionych do oceny pracach, opublikowanych w wysoko punktowanych czasopismach. Jednak recenzent pozwoli sobie na drobne uwagi dyskusyjne dotyczące opisu wyników badań. W pracy P3, na Rys.3 zestawiono cenne wyniki uwalniania jonów wskazując jednostkę [micrograms]. Z kolei w pracy P4, Rys.4 wyniki uwalniania jonów przedstawiono w [%]. Brakuje jednak informacji, do czego odnosi się ta wartość, czy do określonej powierzchni, objętości czy całkowitej masy materiału. Co prawda informacja ta pojawia się w opisie metodyki badań, jednak czytelność wyników badań bezpośrednio z wykresu jest niejasna. Nie wiadomo także, dlaczego zastosowano różne oznaczenia [μg , %] dla określenia tej wartości.

Strona redakcyjna pracy nie budzi większych zastrzeżeń. W pracy natknąć się można na drobne błędy językowe i stylistyczne. Podkreślić jednak należy, że liczba tego typu potknięć jest bardzo niewielka i nie wpływa w najmniejszym stopniu na ocenę pracy. Graficzna strona wykresów w publikacjach została opracowana z wymagającą podkreślenia starannością edytorską. Na pochwałę zasługuje przeprowadzenie kompleksowej obróbki statystycznej otrzymanych wyników badań.

Analiza materiału badawczego pozwala stwierdzić, że Doktorant osiągnął założone cele naukowe. Na podstawie uzyskanych wyników badań Doktorant prawidłowo sformułował podsumowanie i wnioski. Wskazał przy tym najkorzystniejszą metodą syntezy proszków oraz sumarycznie materiały, które biorąc pod uwagę skład jakościowy i ilościowy będą się charakteryzowały najkorzystniejszymi właściwościami fizykochemicznymi i biologicznymi. Wnioski są adekwatne do otrzymanych wyników i są cenne zarówno pod względem poznawczym, jak i użytkowym. Część z nich może stanowić bezpośrednią wytyczną nadającą się do zainicjowania dalszych badań naukowych.

4. Podsumowanie

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr farm. Kamila Pajora pod tytułem „Modyfikacja krystalicznych fosforanów wapnia w celu uzyskania biomateriałów o skutecznej aktywności antybakteryjnej” jest dobrze zaplanowana, udokumentowana licznymi badaniami biochemicznymi i posiada aspekt praktyczny. Na podstawie analizy rozprawy doktorskiej stwierdzam, że zawiera ona wartościowe wyniki poznawcze wnoszące istotny wkład w rozwój nauk farmaceutycznych. Ocenianą pracę cechuje oryginalna tematyka i zastosowanie autorskiego programu badawczego wykorzystującego interdyscyplinarne metody badawcze.

Doktorant w opiniowanej rozprawie wykazał się dobrą orientacją w literaturze dotyczącej tematyki będącej przedmiotem Jego zainteresowania, którą wykorzystał w przeglądzie literatury i dyskusji. Autor pracy doskonale opanował warsztat naukowy, opracował precyzyjną metodykę badawczą i przyjął wystarczająco szeroki, spójny zakres zagadnień rozpatrywanych w rozprawie. W rozprawie dowiódł umiejętności samodzielnego rozwiązania problemu naukowego, uzyskał wartościowe i oryginalne wyniki badań o istotnym znaczeniu poznawczym i o walorach aplikacyjnych oraz opanował umiejętności opracowania i prezentowania osiągniętych rezultatów badawczych.

Przedstawione w recenzji uwagi mają głównie charakter dyskusyjny i nie umniejszają w najmniejszym stopniu osiągnięć naukowych Doktoranta.

W związku z powyższym stwierdzam, że opiniowana praca doktorska spełnia wszelkie wymagania określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm) oraz art. 179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) i przedkładam wniosek

do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr farm. Kamila Pajora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, zważywszy na ponadprzeciętne walory poznawcze i użyteczne pracy, oryginalną tematykę rozwiązanego problemu naukowego oraz fakt opublikowania przez Doktoranta współautorskich prac związanych z tematyką rozprawy wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



dr hab. inż. Joanna Mystkowska, prof. PB

