



Dr hab. Hanna Pruchnik, profesor UPWr

Wrocław, 20.08.2022 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marty Kędzierskiej pt.  
„Ocena właściwości biologicznych modyfikowanych kompozytów  
alginianowych oraz chitozanowo -celulozowych jako potencjalnych czynników  
przyspieszających proces gojenia ran”**

Praca doktorska mgr Marty Kędzierskiej została wykonana w Katedrze Biofizyki Ogólnej Instytutu Biofizyki na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Miłowskiej. Doktorantka podjęła się realizacji zadania, którego celem było określenie właściwości biologicznych kompozytów chitozanowo-celulozowych oraz alginianowych modyfikowanych tlenkami, jako materiałów potencjalnie przydatnych w procesie gojenia ran. Celem pierwszego etapu badań była ocena hemotoksyczności, cytotoksyczności oraz genotoksyczności badanych biokompozytów wobec erytrocytów i wybranych linii ludzkich komórek skóry, a następnie wyselekcjonowanie biokompozytów mogących wpływać na poszczególne etapy procesu gojenia. Nie ma wątpliwości, że praca ma charakter poznawczy i aplikacyjny, przedmiotem badań są nowo otrzymane kompozyty jako potencjalne opatrunki na rany przewlekłe. Każdego roku miliony ludzi na całym świecie doświadczają zarówno ostrych, jak i przewlekłych urazów skóry. Tempo ich powstawania rośnie również ze względu na starzenie się społeczeństwa. Rany przewlekłe najczęściej dotyczą osób w podeszłym wieku obarczonych różnymi chorobami, takimi jak miażdżycę tętnic obwodowych, cukrzyca czy też osób unieruchomionych z odleżynami. Dobór odpowiedniego opatrunku zależy od rodzaju rany oraz od ogólnego stanu zdrowia pacjenta, stąd zasadne jest opracowywanie innowacyjnych biomateriałów o ukierunkowanym zastosowaniu. W pełni zgadzam się ze stwierdzeniem Doktorantki, iż „ocena właściwości biologicznych biokompozytów powinna stanowić pierwszy bardzo ważny etap ich weryfikacji”, zatem podjęcie tego typu badań jest istotne i uzasadnione.



Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Marty Kędzierskiej ma postać spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych wraz z opisem. Rozprawa została podzielona na VII rozdziałów i starannie zredagowana. Układ dysertacji jest logiczny, rozpoczyna się od spisu publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej. W części II „*Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników*” we wprowadzeniu, w oparciu o właściwie dobraną, aktualną literaturę Autorka wyjaśnia znaczenie podjętych badań. Następnie przedstawia cel pracy i hipotezę badawczą oraz syntetycznie omawia otrzymane wyniki badań. Ponadto dołącza i opisuje rezultaty eksperymentu, które nie zostały opublikowane. Ostatnimi podpunktami rozdziału drugiego są podsumowanie i wniosek oraz spis literatury, łącznie 36 pozycji, z czego około 50% są to doniesienia z ostatnich pięciu lat. Następnie, jako rozdział III i IV zamieszczono streszczenia pracy, odpowiednio w języku polskim i angielskim. W części V Autorka przedstawia pozostały dorobek naukowy, a w VI kopie artykułów tworzących pracę doktorską. W ostatnim, VII rozdziale, znajdziemy podpisane oświadczenia wszystkich współautorów publikacji.

Podstawą rozprawy doktorskiej są cztery publikacje (trzy prace oryginalne oraz jedna przeglądowa) o sumarycznym współczynniku oddziaływania  $IF=20,924$ , liczba punktów MNiE – 460:

1. Kędzierska Marta, Miłowska Katarzyna\* (2019) Zastosowanie biomateriałów na bazie chitozanu w leczeniu trudno gojących się ran. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 73: 768-781. Punkty MNiSzW 2019: 40; Impact Factor: 0,878 2; udział procentowy: 80
2. Blilid Sara, Kędzierska Marta, Miłowska Katarzyna, Wrońska Natalia, El Achaby Mounir, Katir Nadia, Belamie Emmanuel, Alonso Bruno, Lisowska Katarzyna, Lahcini Mohammed, Bryszewska Maria\*, El Kadib Abdelkrim\* (2020) Phosphorylated Micro- and Nanocellulose-Filled Chitosan Nanocomposites as Fully Sustainable, Biologically Active Bioplastics. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(50):18354-18365. Punkty MNiSzW 2019: 140; Impact Factor: 8,198; udział procentowy: 25





3. Marta Kędzierska\*, Sara Blilid, Katarzyna Miłowska, Joanna Kołodziejczyk-Czepas, Nadia Katir, Mohammed Lahcini, Abdelkrim El Kadib, Maria Bryszewska (2021) Insight into Factors Influencing Wound Healing Using Phosphorylated Cellulose-Filled-Chitosan Nanocomposite Films. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 11386. Punkty MEiN 2021: 140; Impact Factor: 5,924; udział procentowy: 65
4. Marta Kędzierska\*, Nisrine Hammi, Joanna Kołodziejczyk-Czepas, Nadia Katir, Maria Bryszewska, Katarzyna Miłowska, Abdelkrim El Kadib\* (2022) Glassy-like Metal Oxide Particles Embedded on Micrometer Thicker Alginate Films as Promising Wound Healing Nanomaterials. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 5585. Punkty MEiN 2022: 140; Impact Factor: 5,924; udział procentowy: 50

Prace badawcze powstały w ramach współpracy z zespołem profesora Abdelkirma El Kadiba z Euromed Research Center, Engineering Division, Euro-Med University of Fes, Maroko (UEMF), który to zespół zsyntetyzował i określił właściwości fizykochemiczne badanych biomateriałów. Zgodnie z oświadczeniami współautorów udział procentowy Doktorantki w poszczególnych publikacjach jest znaczący, w przypadku dwóch artykułów opublikowanych w wydawnictwie MDPI znajduje swoje dodatkowe potwierdzenie dzięki sekcji CREDIT na końcach tych prac. Autorka rozprawy wykonała całość badań biologicznych będących podstawą dysertacji oraz opracowała, zinterpretowała i przedyskutowała uzyskane wyniki. Uczestniczyła w tworzeniu koncepcji wszystkich prac, redagowaniu tekstu manuskryptów jak również przygotowała lub brała udział w przygotowaniu (praca nr 2) odpowiedzi dla recenzentów. Wszystko to świadczy o tym, iż Doktorantka posiada szeroką wiedzę teoretyczną w zakresie prezentowanych zagadnień oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Pierwszym artykułem w cyklu publikacji jest praca przeglądowa. Została przygotowana w oparciu o najnowsze doniesienia z zakresu inżynierii biomateriałów zawierających naturalne polimery, stosowanych jako opatrunki w gojeniu ran przewlekłych. Doktorantka opisuje również wpływ polisacharydów na poszczególne etapy procesu gojenia oraz złożony proces gojenia ran. Publikacja stanowi bardzo dobre, obszerne wprowadzenie do tematyki będącej przedmiotem niniejszej dysertacji.



Badania biologiczne opisane w kolejnych, oryginalnych publikacjach prowadzone były na ludzkich erytrocytach i osoczu oraz dwóch adherentnych liniach komórek skóry: ludzkich fibroblastach skóry (BJ) i ludzkich keratynocytach skóry (KERTr).

Pierwszą grupą badanych materiałów były filmy chitozanowo-celulozowe zbudowane z celulozy mikrokrokrystalicznej (CS@MCC-f, CS@P-MCC-f, CS@PN-MCC-f), celulozy nanokrokrystalicznej (CS@CNC-f, CS@P-CNC-f, CS@PN-CNC-f) oraz film chitozanowy (CS-f). Rezultaty tych badań zostały opisane w dwóch artykułach (prace 2 i 3) oraz w dysertacji. Sprawdzono wpływ biomateriałów na hemolizę, adsorpcję oraz utlenianie hemoglobiny. Poziom hemolizy erytrocytów oznaczono spektrofotometrycznie poprzez pomiar absorbancji uwolnionej hemoglobiny. Analizowano właściwości cytotoksyczne, genotoksyczne i antyoksydacyjne, a także hemostatyczne kompozytów chitozanowo-celulozowych oraz ich wpływ na migrację komórek skóry człowieka w kontekście oddziaływania na proces gojenia ran. Do oceny cytotoksyczności biokompozytów chitozanowo-celulozowych względem dwóch linii komórkowych skóry człowieka (fibroblastów i keratynocytów) wykorzystano standardowy, kolorymetryczny test żywotności MTT. Drugą metodą określającą mechanizm cytotoksyczności była analiza zmian potencjału mitochondrialnego. W celu określenia genotoksyczności badanych materiałów zastosowano test kometowy. Za pomocą tego testu sprawdzono również wpływ materiałów na poziom uszkodzeń DNA. Do oceny właściwości hemostatycznych wykorzystano metody koagulometryczne. Wykonano pomiary trzech markerów diagnostycznych oceniających sprawność działania układu hemostazy: czasu protrombinowego, czasu trombinowego oraz czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji. Do analizy migracji fibroblastów i keratynocytów pod wpływem materiałów chitozanowo-celulozowych wykorzystano ilościowy test migracji komórek przy użyciu wkładek do hodowli komórkowych ThinCert™. Dodatkowo, za pomocą komercyjnego testu ELISA Human GAGs, KIT from Wuhan Fine Biotech Co.,Ltd. sprawdzono wpływ kompozytów chitozanowo-celulozowych na poziom glikozaminoglikanów (GAGs) w fibroblastach.

Drugą grupą badanych materiałów były biokompozyty alginianowe modyfikowane tlenkami metali: wanadu, germanu, żelaza, cynku oraz tytanu (Alg, Alg@(V-O-V)<sub>n</sub>, Alg@GeO<sub>2</sub>, Alg@(Fe-O-Fe)<sub>n</sub>, Alg@ZnO 20:1, Alg@ZnO 10:1, Alg@ZnO 5:1, Alg@ZnO (Cl) 20:1,





Alg@ZnO (Cl) 10:1, Alg@ZnO (Cl) 5:1, Alg@(Ti-O-Ti)n dla których, podobnie jak dla kompozytów chitozanowo-celulozowych, sprawdzono toksyczność, wpływ na erytrocyty, hemoglobinę i układ hemostazy oraz migrację komórek skóry człowieka, przy czym ten ostatni test wykonano dla wybranej grupy najmniej toksycznych materiałów alginianowych. Wyniki badań aktywności biologicznej biokompozytów alginianowych modyfikowanych tlenkami metali zamieszczono w publikacji nr 4.

Na podstawie przeprowadzonych *in vitro* badań wykazano, że biokompozyty chitozanowo-celulozowe, w przeciwieństwie do alginianowych modyfikowanych tlenkami żelaza, cynku i wanadu, wykazywały niewielką toksyczność zarówno względem erytrocytów jak i komórek skóry. Kompozyty celulozowe nie powodowały również znacznych uszkodzeń DNA. Wszystkie natomiast wykazywały działanie prokoagulacyjne wpływając zarówno na wewnątrzpochodny i zewnątrzpochodny szlak krzepnięcia krwi, stanowiący ważny element etapu hemostazy gojenia ran. Ponadto, wybrane materiały: CS@f, CS@MCC-f, CS@P-MCC-f oraz CS@PN-MCC-f powodowały wzrost poziomu glikozaminoglikanów w komórkach, które są odpowiedzialne za utrzymywanie odpowiedniego stopnia nawilżenia skóry, utrzymywanie odpowiedniej struktury skóry oraz spajanie naskórka ze skórą właściwą. Stwierdzono, że spośród kompozytów alginianowych, jedynie filmy z samym alginianem Alg oraz modyfikowany tlenkiem tytanu Alg@(Ti-O-Ti)n wykazywały właściwości wspomagające proces gojenia ran.

Podczas lektury pracy doktorskiej nasunęło mi się kilka pytań:

- W opisie przygotowania eksperymentu z erytrocytami podano, że do roztworu dodawano kwadraty filmu celulozowego albo alginianowego o rozmiarach 0,5 cm x 0,5 cm. Dlaczego zdecydowano się na taki rozmiar? Ile było takich kwadratów w danej objętości próbki?
- W jakiej postaci stosowano kompozyty alginianowe w testach cytotoksyczności i genotoksyczności?
- Jakie powinny być kolejne etapy badań w celu potwierdzenia prognozowanych właściwości wybranych biomateriałów?



Po analizie cyklu prac stwierdzam, że powstał on na podstawie przemyślanego planu badawczego, metody pomiarowe zostały odpowiednio dobrane, a przyjęte założenia prawidłowo zweryfikowane. Otrzymane przez mgr Martę Kędzierską wyniki są interesujące, o dużym znaczeniu praktycznym. Lektura publikacji utwierdza mnie w przekonaniu, iż Doktorantka nie tylko zna i wykorzystuje szerokie spektrum metod badawczych, ale posiada również umiejętność krytycznej analizy uzyskanych rezultatów i prowadzenia dyskusji. Analizując zestaw oryginalnych prac chciałabym podkreślić, iż istotnym elementem każdej z nich jest dyskusja wyników, która pokazuje teoretyczne i praktyczne znaczenie prowadzonych badań nad właściwościami materiałów zawierających naturalne polisacharydy oraz nad ich potencjalnym zastosowaniem w medycynie.

Na uwagę zasługuje dorobek naukowy Doktorantki. Zawartość rozdziału V wskazuje, że Pani mgr Marta Kędzierska legitymuje się dużym doświadczeniem zdobytym w trakcie zagranicznych staży naukowych, konferencji krajowych i międzynarodowych jak również przy realizacji międzynarodowego projektu finansowanego przez NAWA. Pani Marta Kędzierska oprócz publikacji włączonych do rozprawy doktorskiej jest współautorką 4 prac oryginalnych, publikacji przeglądowej i 18 doniesień zjazdowych, na podkreślenie zasługuje wysoka całkowita liczba punktów MEiN - 925 oraz wartość *impact factor* dorobku naukowego Doktorantki, IF=38,942. Pani mgr Marta Kędzierska aktywnie uczestniczyła również w promocji i pracach na rzecz swojej uczelni, m.in. współorganizowała i prowadziła liczne warsztaty oraz konferencje, była przedstawicielem doktorantów w Wydziałowej Komisji ds. Jakości Studiów Doktoranckich.

Podsumowując, niniejsza rozprawa doktorska ma oryginalny charakter i zgłębia dotychczas niezbadane właściwości biologiczne kompozytów chitozanowo-celulozowych oraz alginianowych modyfikowanych tlenkami wanadu, germanu, żelaza, cynku oraz tytanu. Należy podkreślić, że mgr Marta Kędzierska podjęła się istotnego zadania, badania zostały starannie zaplanowane i opublikowane w międzynarodowych, renomowanych czasopismach. Doktorantka udowodniła, że potrafi wykorzystać znajomość wielu metod badawczych. Należy też zaznaczyć wysokie znaczenie poznawcze i aplikacyjne uzyskanych wyników w kontekście projektowania skutecznych materiałów przyspieszających proces gojenia ran.



UNIwersYTET  
PRZYRODnicZY  
WE WROcŁAWIU

KATEDRA FIZYKI I BIOFIZYKI

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Marty Kędzierskiej jest wartościowym, oryginalnym osiągnięciem i spełnia wymogi Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami). Wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Doktorantki do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 20 sierpnia 2022

