[logo UFSJ]
Universidade Federal
de São João del-Rei

Recenzja pracy doktorskiej mgr Ihtisham[a] Ul Haq[a]

1. Dane formalne recenzowanej pracy doktorskiej

Niniejsza recenzja została sporządzona w ramach umowy o dzieło nr UMC/3407/2026 (nr ref. 3271/UMC/RCH0-1/2026), zawartej pomiędzy Politechniką Śląską w Gliwicach, reprezentowaną przez prof. dr hab. inż. Wojciecha Simkę jako zleceniodawcą, a dr Paulo Afonso Granjeiro jako recenzentem. Jej celem jest ocena, czy praca doktorska pt. „Biofunctionalized urinary catheter surfaces with antimicrobial peptides to prevent urinary tract infections [Biofunkcjonalizacja powierzchni cewników moczowych peptydami przeciwdrobnoustrojowymi w celu zapobiegania zakażeniom dróg moczowych]" spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o szkolnictwie wyższym i nauce.

Pozycja	Szczegóły
Kandydat	Ihtisham Ul Haq, mgr
Tytuł pracy doktorskiej	Biofunctionalized urinary catheter surfaces with antimicrobial peptides to prevent urinary tract infections [Biofunkcjonalizacja powierzchni cewników moczowych peptydami przeciwdrobnoustrojowymi w celu zapobiegania zakażeniom dróg moczowych]
Stopień doktora, o który się ubiega	Doktor nauk chemicznych; praca doktorska została złożona równocześnie w instytucji partnerskiej w celu uzyskania stopnia doktora w dziedzinie innowacji technologicznych (biotechnologia i biofarmaceutyka)
Instytucja przyjmująca	Politechnika Śląska w Gliwicach, Polska; Katedra Chemii Fizycznej I Technologii Polimerów
Instytucja partnerska	Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazylia, w ramach umowy o współopiekę naukową
Promotorzy	Prof. Katarzyna Krukiewicz (SUT); prof. Maria Elena De Lima (UFMG)
Współpromotorzy	prof. Rafael Pinto Vieira (UFMG); dr William Gustavo de Lima

Pozycja	Szczegóły
Objętość	160 stron; sześć rozdziałów; 13 załączników; streszczenia w języku angielskim, polskim i portugalskim
Zgłoszone publikacje związane z pracą doktorską	Pięć artykułów w czasopismach, z których cztery zostały opublikowane, a jeden jest w druku w momencie sporządzania niniejszej recenzji
Podstawa prawna oceny	art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o szkolnictwie wyższym i nauce
Data niniejszej recenzji	24 października 2026 r.

Ocena opiera się na pełnym tekście pracy doktorskiej w formie, w jakiej została złożona, z uwzględnieniem wszystkich tabel, rysunków, podpisów pod rysunkami, wykazu literatury oraz załączników. Nie uwzględnia ona publikacji źródłowych w zakresie wykraczającym poza to, w jakim zostały one przytoczone w pracy doktorskiej.

Praca doktorska została złożona w ramach umowy o współopiekę naukową. Niniejsza recenzja odnosi się do warunków określonych w art. 187 w zakresie, w jakim mają one zastosowanie do postępowania prowadzonego na Politechnice Śląskiej. W przypadku gdy uwaga dotyczy konkretnie aspektu technologicznego i translacyjnego ocenianego przez instytucję partnerską, zostaje to wyraźnie zaznaczone.

2. Oświadczenie o bezstronności

Zgodnie z § 2.2 umowy recenzent oświadcza, że realizacja przedmiotu umowy leży w zakresie jego kompetencji, że żadna przeszkoda techniczna ani prawna nie uniemożliwia jej realizacji w całości lub w części oraz że nie występują żadne okoliczności, które mogłyby budzić wątpliwości co do jego bezstronności. W szczególności:

1. Recenzent nie jest współautorem żadnej pracy naukowej doktoranta. Nazwisko recenzenta nie figuruje wśród autorów żadnej z pięciu publikacji związanych z rozprawą, ani wśród autorów sześciu kolejnych publikacji wymienionych w rozdziale VI rozprawy, ani w podziękowaniach zawartych w tej rozprawie.
2. Recenzent nie uczestniczył i nie uczestniczy wspólnie z doktorantem w zespołach badawczych realizujących projekty finansowane w ramach konkursów krajowych lub międzynarodowych.
3. Recenzent nie prowadził wspólnie z doktorantem prac badawczych w żadnej jednostce akademickiej.
4. Recenzent nie sporządzał recenzji w innych postępowaniach dotyczących awansu naukowego kandydata i nie pełnił funkcji promotora ani współpromotora pracy doktorskiej w takich postępowaniach.

[koniec strony 2 z 24]

5. Nie występuje żadna inna okoliczność określona w art. 24 ustawy z dnia 14 czerwca 1960 r. – Kodeks postępowania administracyjnego, która uniemożliwiałaby wykonanie przedmiotu umowy.

Recenzja została sporządzona osobiście przez recenzenta i nie została powierzona, w całości ani w części, żadnej innej osobie.

3. Ocena struktury rozprawy oraz jej elementów składowych

Rozprawa ma formę klasycznej monografii liczącej 160 stron, podzielonej na sześć rozdziałów, poprzedzonych częścią wstępną, a zakończonych wykazem literatury, wykazami tabel i rysunków oraz załącznikami. Składa się ona z następujących elementów.

Element	Zakres	Treść
Część wstępna	str. i–xx	Przedmowa zawierająca informacje o porozumieniu w sprawie wspólnego nadzoru, podziękowania, spis treści, streszczenia w języku angielskim, polskim i portugalskim, wykaz skrótów i symboli, wykaz publikacji związanych z pracą doktorską
Rozdział I, Część teoretyczna	str. 1–31	Wprowadzenie (sekcja 1) oraz przegląd literatury (sekcje 2.1–2.16), zakończone uzasadnieniem (2.15) oraz hipotezą i celami (2.16)
Rozdział II, Część eksperymentalna	str. 32–43	Materiały i metody, sekcje 3.1–3.19

Rozdział III, Część wynikowa	str. 44–81	Sekcje 4.1–4.23, przedstawiające charakterystykę wolnych peptydów (4.1–4.9), układ PVA/PLL (4.10–4.16) oraz układ SA/LyeTx I mnΔK (4.17–4.23)
Rozdział IV, Dyskusja	str. 82–93	Omówienie całościowe, zakończone konkretnym wskazaniem ograniczeń
Rozdział V, Wnioski i kierunki dalszych badań	str. 94–95	Wnioski i propozycje dalszych badań
Oświadczenie komisji bioetycznej oraz wsparcie finansowe	str. 95	Numer protokołu etycznego i źródła finansowania
Rozdział VI, Wyniki badań	str. 96–100	Staże, publikacje, wkład w konferencje, udział w projektach, nagrody
Lista bibliograficzna	str. 101–133	Około 380 pozycji, uporządkowanych alfabetycznie
Wykazy tabel i rysunków	str. 134–138	8 tabel i 37 rysunków
Załączniki	str. 139–140	Certyfikat zatwierdzenia badań na zwierzętach oraz zezwolenia dotyczące praw autorskich do dwóch zamieszczonych rysunków

[koniec strony 3 z 24]

Ogólna struktura pracy jest dostosowana do tematyki i zgodna z kolejnością oczekiwaną w przypadku monografii doktorskiej z dziedziny nauk chemicznych. Podział prac eksperymentalnych na wstępne badanie mające na celu ustalenie metodologii z wykorzystaniem substancji zastępczej oraz kolejne badanie z udziałem docelowego peptydu stanowi trafną decyzję projektową i jest wyraźnie czytelny dla odbiorcy. Trójjęzyczne streszczenia są kompletne i spójne między sobą. Umieszczenie w załącznikach informacji o zgodzie komisji bioetycznej oraz zezwoleniach dotyczących praw autorskich stanowi prawidłową praktykę.

Cztery aspekty układu graficznego wymagają poprawek lub zyskałyby na wprowadzeniu zmian.

Po pierwsze, numeracja rozdziałów jest niespójna. Oznaczenie „Rozdział V" odnosi się zarówno do Wniosków (sekcja 6), jak i – w treści pracy – do rozdziału poświęconego wynikom badań (sekcja 9), który w spisie treści oznaczono jako Rozdział VI. Numeracja rozdziałów oraz dziesiętna numeracja sekcji przebiegają równolegle bez określonego związku, a zetem rozdział III rozpoczyna się od sekcji 4. Konieczna jest zmiana numeracji.

Po drugie, spis treści nie odpowiada w sposób spójny treści głównej. Sekcja 3.13 jest wymieniona na stronie 49, a pojawia się na stronie 40; Rozdział II jest wymieniony na stronie 35, podczas gdy jego pierwsza sekcja rozpoczyna się na stronie 32; wykaz publikacji jest wymieniony na stronie xviii, a pojawia się na stronie xx. Przed tym wykazem znajdują się dwie puste strony (xviii i xix). Spis treści należy sporządzić od nowa.

Po trzecie, rozdzielenie między rozdziałem III a rozdziałem IV jest tak rygorystyczne, że znaczna część danych liczbowych jest podana dwukrotnie – raz w formie opisowej w części „Wyniki", a następnie ponownie w części „Dyskusja". Fragmenty dotyczące procentowego hamowania wzrostu *S. aureus* i *E. coli*, logarytmicznej redukcji liczby czterech patogenów związanych z cewnikami, spożycia żywności i makroskładników odżywczych oraz parametrów ADMET są w znacznym stopniu powtórzone. Zwięzłe przedstawienie powtórzonych informacji w rozdziale IV tak, aby dyskusja miała charakter interpretacyjny, a nie opisowy, znacznie skróciłoby ten rozdział i wyostrzyło jego argumentację.

Sformułowanie hipotezy i celów umieszczono w sekcji 2.16, na końcu przeglądu literatury. Takie umiejscowienie jest uzasadnione, ponieważ pozwala na to, by cele wynikały z uzasadnienia, jednak

hipoteza stanowi centralny punkt całej rozprawy i byłaby bardziej widoczna albo na końcu wstępu, albo jako osobny, krótki rozdział.

4. Ocena literatury wykorzystanej w pracy doktorskiej

Lista bibliograficzna zawiera około 380 pozycji, uporządkowanych alfabetycznie i zajmujących 33 strony. Rozkład według roku publikacji jest odpowiedni dla szybko rozwijającej się dziedziny: nieco ponad połowa cytowanych prac pochodzi z 2019 roku lub później, w tym 35 z 2020 roku, 34 z 2021 r., 26 z 2024 r. i 23 z 2025 r., jest także niewielka liczba starszych prac o charakterze fundamentalnym, z których najstarszą jest raport z 1960 r. dotyczący bakteriurii u pacjentów hospitalizowanych. Rysunek 3, przedstawiający wzrost liczby publikacji dotyczących peptydów przeciwdrobnoustrojowych na podstawie wyszukiwania w bazie PubMed przeprowadzonego w marcu 2026 r., wskazuje, że kandydat nadal śledził rozwój tej dziedziny aż do momentu złożenia pracy.

[koniec strony 4 z 24]

Zakres opracowania jest rzeczywiście szeroki i świadczy o biegłej znajomości kilku odrębnych obszarów literatury: epidemiologii klinicznej i ekonomiki zakażeń dróg moczowych związanych z cewnikiem; patogenezy uropatogennej *Escherichia coli* oraz roli adhezyn fimbrialnych; struktury i mechanizmu działania peptydów przeciwdrobnoustrojowych; chemii polimerów i strategii koniugacji peptydów z polimerami; a także technik modyfikacji powierzchni urządzeń medycznych. Sekcja 2.13, poświęcona zakresowi polimerów o działaniu przeciwbakteryjnym stosowanych w powłokach cewników, oraz sekcja 2.14, zawierająca zestawienie w formie tabeli opisanych powłok cewników opartych na peptydach przeciwbakteryjnych i polimerach (Tabela 1), stanowią najmocniejsze elementy niniejszego przeglądu i mogłyby stanowić samodzielne, użyteczne źródło informacji dla tej dziedziny. Analiza ekonomiczna przedstawiona w sekcji 2.8 jest niezwykle szczegółowa jak na rozprawę doktorską z chemii i opiera się na rzetelnych źródłach.

Trzy uwagi ograniczają tę pozytywną ocenę.

Styl cytowania nie jest spójny w obrębie tekstu. Cytaty w tekście są zgodne z konwencją „autor-data", natomiast lista bibliograficzna jest uporządkowana według porządku elementów w stylu Vancouver, z rokiem umieszczonym po skróconym tytule czasopisma. Należy ujednolicić te dwie konwencje i stosować jeden styl w całym tekście.

Przegląd ten stanowi miejscami raczej kompilację opublikowanych wartości niż krytyczną syntezę. W sekcjach 2.1, 2.2 i 2.8 zgromadzono kolejno dane dotyczące częstości występowania i kosztów pochodzące z wielu jurysdykcji i różnych projektów badawczych, bez uzgodnienia definicji, na których się opierają. W samej pracy doktorskiej na końcu sekcji 2.8 zaznaczono, że terminy „bakteriuria" i „zakażenie dróg moczowych" są używane zamiennie w opublikowanych raportach, co stanowi właśnie tę kwestię metodologiczną, która powinna była stanowić wytyczną dla poprzednich stron. Krótsze omówienie, w którym dokonanoby odróżnienia bezobjawowej bakteriurii od infekcji objawowej, a definicje kontrolne od klinicznych, byłoby bardziej przekonujące niż obecne wyliczenie.

Literatura dotycząca konkretnego problemu, który w dalszej części pracy doktorskiej uznano za decydujący – a mianowicie stabilności proteolitycznej peptydów przeciwdrobnoustrojowych w moczu oraz dostępnych strategii chemicznych mających na celu jego rozwiązanie – została omówiona pokrótce w sekcji 2.11, a bardziej szczegółowo dopiero w części poświęconej dyskusji. Biorąc pod uwagę, że jest to ustalenie, na którym opierają się własne wnioski kandydata, literatura dotycząca stabilizacji (substytucja D-aminokwasami, cyklizacja, PEGylacja, projektowanie retro-inverso, wiązanie kowalencyjne) zasługiwała na pełniejsze omówienie w przeglądzie, gdzie mogłaby stanowić ramy programu eksperymentalnego, a nie jedynie wyjaśniać jego wyniki z perspektywy czasu.

[koniec strony 5 z 24]

Sama lista bibliograficzna jest poprawna w odniesieniu do pozycji, które zweryfikowałem w oparciu o ich źródła, a cytaty w tekście odpowiadają pozycjom na liście. Konkretne błędy dotyczące szczegółów cytatów zostały odnotowane w sekcji 9 niniejszej recenzji.

5. Cel pracy kandydata: określenie i ocena

Cel został określony w sekcji 2.16. Postawiono hipotezę, że pokrycie cewników moczowych polimerami i peptydami przeciwdrobnoustrojowymi wywołuje działanie przeciwbakteryjne i przeciwdziałające tworzeniu się biofilmu przy minimalnej toksyczności wobec komórek ssaków, zapobiegając w ten sposób zakażeniom dróg moczowych związanym z cewnikiem oraz przedłużając okres jego użytkowania. Poniżej przedstawiono dziewięć celów operacyjnych: identyfikacja izolatów *E. coli* wywołujących choroby układu moczowego; ocena aktywności przeciwbakteryjnej peptydów pochodzących z *Lycosa erythrognatha*; ocena aktywności przeciwhadhezyjnej i przeciwbiofilmowej LyeTx I mnΔK; ocena mechanizmu działania tej substancji poprzez dokowanie molekularne z bakteryjną adhezyną; przewidywanie jej właściwości farmakokinetycznych za pomocą analizy ADMET; ocena jego toksyczności *in vitro* oraz *in vivo*; ocena, czy włączenie do polimerów zwiększa jego stabilność; optymalizacja nanoszenia metodą natrysku ultradźwiękowego powłoki z poli(alkoholu winylowego) zawierającej poli-L-lizynę na cewnik; oraz nanoszenie alginianu sodu z LyeTx I mnΔK na silikon klasy medycznej wraz z weryfikacją jego skuteczności przeciwbakteryjnej i przeciwbiofilmowej.

Cele zostały jasno sformułowane, uporządkowane logicznie i – z zastrzeżeniami przedstawionymi poniżej – są osiągalne przy użyciu metod dostępnych kandydatowi. Stanowią one spójną całość, począwszy od wyboru czynnika, poprzez mechanizm działania i bezpieczeństwo, aż po preparację i właściwości powierzchniowe, a każdy z nich został uwzględniony w konkretnych pracach eksperymentalnych opisanych w rozdziale III. Uzasadnienie zawarte w sekcji 2.15 odpowiednio wyjaśnia powody wyboru tej rodziny peptydów, powołując się na wcześniejsze dowody aktywności przeciwko *A. baumannii* opornej na karbapenemy, *S. aureus* opornej na metycylinę oraz *C. albicans* opornej na flukonazol, a także prawidłowo stwierdza, że peptyd ten nie był dotychczas badany jako środek związany z powierzchnią urządzenia medycznego.

Trzy zastrzeżenia dotyczą sformułowania celu, a nie jego realizacji.

Hipoteza zawiera trzecią część dotyczącą zapobiegania zakażeniom związanym z cewnikiem oraz wydłużenia okresu użytkowania cewnika, których zaprojektowany program eksperymentalny nie jest w stanie zbadać. W rozprawie nie pojawiają się żadne badania *in vivo* z wykorzystaniem urządzenia, żadne modele przepływu ani modele pęcherza moczowego, ani też żadne pomiary okresu użytkowania cewnika. Pierwsze dwie części hipotezy, dotyczące działania przeciwbakteryjnego i przeciwbiofilmowego oraz cytokompatybilności u ssaków, zostały odpowiednio uwzględnione. Hipotezę należy przeformułować tak, aby odpowiadała temu, co można ustalić w ramach niniejszej pracy, przy czym twierdzenie kliniczne należy określić jako cel długoterminowy, jakim faktycznie jest. Wnioski zawarte w rozdziale V uwzględniają tę granicę w sposób bardziej precyzyjny niż sama hipoteza.

[koniec strony 6 z 24]

W celu 4 zapowiedziano ocenę mechanizmu działania za pomocą dokowania molekularnego. Dokowanie pozwala sformułować hipotezę dotyczącą geometrii wiązania; nie pozwala natomiast na ocenę mechanizmu działania. Sformułowanie tego celu sugeruje więcej, niż może zapewnić ta metoda, dlatego należy je dostosować tak, aby odnosiło się do przewidywania potencjalnej interakcji.

Cel 7, dotyczący tego, czy włączenie do polimerów zwiększa stabilność peptydu, został poruszony jedynie pośrednio. W ramach badania przesiewowego polimerów opisanego w sekcjach 3.8 i 3.9

wybrano alginian sodu na podstawie integralności fizycznej odlewanych warstw w roztworze soli fizjologicznej z buforem fosforanowym w ciągu siedmiu dni, co jest właściwością warstwy polimerowej, a nie samego peptydu. Następnie zmierzono stabilność powłoki w moczu w okresie 14 dni (sekcja 4.23) oraz stabilność wolnego peptydu w ciągu 48 godzin (sekcja 4.8), stosując różne testy i różne punkty końcowe. Oba zestawy danych rozpatrywane łącznie sugerują ochronne działanie matrycy, jednak nie stanowią one porównania, o którym mowa w celu pracy. Pojedynczy eksperyment porównujący peptyd wolny i peptyd wbudowany w matrycę w moczu w identycznych warunkach rozstrzygnąłby tę kwestię i znacznie wzmocniłby wartość naukową pracy doktorskiej.

6. Identyfikacja i ocena zastosowanych metod badawczych

6.1 Zidentyfikowane metody

Kandydat zastosował cztery grupy metod.

Metody mikrobiologiczne: identyfikacja izolatów klinicznych za pomocą badań biochemicznych, fizjologicznych i morfologicznych; badanie wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe metodą dyfuzyjną z użyciem krążków, zgodnie z zaleceniami BrCAST 2024; oznaczanie minimalnego stężenia hamującego (MIC) i minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC) metodą mikrorozcieńczenia w bulionie zgodnie z normą CLSI M07 (2018); kwantyfikacja biomasy biofilmu poprzez barwienie fioletem krystalicznym; ocena żywotności komórek biofilmu poprzez redukcję MTT; testy antyadhezyjne na odcinkach cewnika z liczbą żywych komórek wyrażoną na centymetr cewnika; liczba żywych komórek na jednostkę powierzchni na powlekanych próbkach; oraz różnicowe barwienie komórek żywych i martwych jodkiem propidyny i SYTO 9, odczytywane za pomocą konfokalnego mikroskopu fluorescencyjnego.

Charakterystyka powierzchni i materiałów: mikroskopia skaningowa elektronowa; spektroskopia rentgenowska z dyspersją energii zintegrowana z mikroskopem; spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera z wykorzystaniem uniwersalnego akcesorium do pomiaru osłabionego odbicia całkowitego w zakresie 4000–400 cm^{-1}; goniometria kąta zwilżania metodą osadzanej kropli; oraz profilometria optyczna do pomiaru chropowatości arytmetycznej, od szczytu do doliny oraz powierzchniowej.

Metody obliczeniowe: trójwymiarowe przewidywanie struktury za pomocą programu I-TASSER, wizualizacja w programie PyMOL oraz walidacja poprzez analizę Ramachandrana; konwersja sekwencji peptydowej na reprezentację SMILES za pomocą programu PepSMI; dokowanie molekularne z adhezynami FimH i PapG przy użyciu serwera ClusPro oraz przygotowanie struktury w środowsku Molecular Operating Environment; a także przewidywanie parametrów absorpcji, dystrybucji, metabolizmu, wydalania i toksyczności za pomocą programu ADMETlab 2.0.

Bezpieczeństwo biologiczne i metody osadzania: cytotoksyczność wobec komórek HEK-293 metodą MTT oraz wobec prawidłowych ludzkich fibroblastów skórnych metodą redukcji resazuryny, zgodnie z normą ISO 10993; toksyczność ostra u myszy BALB/c zgodnie z wytyczną testową OECD nr 423 z modyfikacjami, obejmująca pomiar stężenia kreatyniny w surowicy, badanie grawimetryczne nerek pod kątem obrzęku oraz badanie histologiczne z użyciem hematoksyliny i eozyny; aktywacja podłoża silikonowego za pomocą plazmy niskociśnieniowej; oraz nanoszenie metodą natrysku ultradźwiękowego w systemie SonoTek ExactaCoat przy określonych parametrach: prędkości dyszy, natężeniu przepływu, prędkości obrotowej, częstotliwości i mocy. Analiza statystyczna obejmowała test Shapiro-Wilka na normalność rozkładu oraz jednoczynnikową analizę wariancji z porównaniem post hoc metodą Dunnetta lub Tukey'a, przy progu istotności wynoszącym 0,05.

6.2 Ocena

Podsumowując, wybrane metody są odpowiednie dla wyznaczonych celów, a eksperymenty przeprowadzono prawidłowo; należy jednak zwrócić uwagę na kilka kwestii.

Metodologia mikrobiologiczna została dobrze dobrana i kompetentnie zastosowana, stanowiąc najmocniejszy element metodologiczny niniejszej pracy doktorskiej. Przeprowadzenie badań na dziesięciu izolatach klinicznych, których mechanizmy oporności na chinolony zostały wcześniej scharakteryzowane, a nie na jednym szczepie referencyjnym, nadaje wartościom MIC_{50} i MBC_{50} istotne znaczenie oraz pozwala dostrzec zróżnicowanie pomiędzy poszczególnymi izolatami. Badania z użyciem meropenemu i kolistyny przeprowadzono równolegle i uzyskano wyniki mieszczące się w oczekiwanym zakresie, co potwierdza prawidłowość warunków przeprowadzania testów. Dodanie Tween-80 w celu zahamowania adsorpcji peptydu na płytce polistyrenowej świadczy o świadomości istnienia dobrze udokumentowanego artefaktu w badaniach wrażliwości peptydów. Decyzja o pomiarze biomasy biofilmu i żywotności komórek biofilmu za pomocą oddzielnych testów oraz o wskazaniu, że wyniki tych dwóch pomiarów są rozbieżne, jest metodologicznie poprawna i pozwala na sformułowanie najbardziej uzasadnionego wniosku biologicznego niniejszej pracy doktorskiej. Aktywacja substratu w plazmie przed osadzaniem oraz optymalizacja powłoki warstwa po warstwie pod kątem chropowatości i zawartości pierwiastków stanowią właściwą praktykę w zakresie opracowywania procesów.

[koniec strony 8 z 24]

Tożsamość i czystość peptydu opierają się wyłącznie na specyfikacji dostawcy. Nie zamieszczono żadnego widma masowego, chromatogramu ani certyfikatu analizy. W sekcji 3.1 stwierdzono, że masa cząsteczkowa oraz molowy współczynnik ekstynkcji zostały „określone empirycznie na podstawie pierwotnej sekwencji peptydu" przy użyciu narzędzia PepCalc; wielkości te zostały obliczone na podstawie sekwencji, a nie określone empirycznie, a identyczny współczynnik ekstynkcji wynoszący 5690 M^{-1} cm^{-1}, podany dla wszystkich siedmiu analogów, wynika po prostu z obecności jednej reszty tryptofanu wspólnej dla wszystkich tych związków. Niezależne potwierdzenie tożsamości i czystości za pomocą spektrometrii masowej oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej jest rutynowe, niedrogie i stanowiłoby podstawę każdego wyniku zależnego od stężenia przedstawionego w rozprawie.

Nie określono ilości peptydu obecnego w powłoce, a także nie wykazano integralności molekularnej peptydu po osadzeniu. Atomizacja ultradźwiękowa przy częstotliwości 60 kHz i mocy 7,5 W, a następnie odparowanie rozpuszczalnika, stanowi prawdopodobną drogę prowadzącą do degradacji peptydu. W pracy doktorskiej słusznie argumentuje się, że metoda ta pozwoliła zachować działanie przeciwbakteryjne w systemie zastępczym z poli(alkoholem winylowym) i poli-L-lizyną, jednak poli-L-lizyna jest silnym polikationem i nie stanowi odpowiedniego strukturalnego odpowiednika zdefiniowanego peptydu helikalnego o szesnastu resztach. W przypadku układu z alginianem sodu brakuje oznaczenia zawartości, profilu uwalniania oraz pomiaru konformacyjnego. Jedynym dowodem chemicznym na obecność peptydu jest zmiana intensywności i kształtu pasma amidowego I w obszarze widma, w którym silnie absorbują również pasma karboksylanowe alginianu. Dichroizm kołowy ponownie rozpuszczonej powłoki, analiza aminokwasowa lub spektrometria masowa eluatu pozwoliłyby rozstrzygnąć tę kwestię.

Wreszcie projekt badania *in vivo* podnosi dwie kwestie metodologiczne. W badaniu przytoczono wytyczne OECD nr 423, które obejmują zakres dawek od 5 do 2000 mg/kg, jednak podano dawki 1, 5 i 10 µg/kg, czyli o pięć do sześciu rzędów wielkości niższe. Odstępstwo to zostało odnotowane jedynie sformułowaniem „z modyfikacjami" i nie zostało uzasadnione. Osobno należy zauważyć, że przy trzech zwierzętach w każdej grupie, test Shapiro-Wilka nie pozwala na miarodajną ocenę normalności rozkładu, a analiza wariancji charakteryzuje się bardzo niską mocą statystyczną; ponadto wyniki badań histologicznych opisano jako zależne od dawki bez zastosowania oceny ślepej

czy półilościowej. Odniesienie do normy ISO 10993:2009 nie wskazuje, która część tej normy została zastosowana; w przypadku cytotoksyczności *in vitro* powinna to być norma ISO 10993-5.
[koniec strony 9 z 24]

7. Ocena omówienia wyników badań

Rozdział IV zajmuje dwanaście stron i zasadniczo podąża za kolejnością przedstawionych wyników. Jest to raczej merytoryczne omówienie niż streszczenie i świadczy o tym, że kandydat uważnie zapoznał się z literaturą z danej dziedziny.

Jej główną zaletą jest charakter porównawczy. Kandydat przez cały czas zestawia własne wyniki z danymi opublikowanymi: minimalne stężenia hamujące LyeTx I mnΔK wobec uropatogennej *E. coli* w porównaniu z podawanymi wartościami 1–16 µM wobec opornej na karbapenemy *A. baumannii* oraz 8–32 µM wobec opornego na metycylinę *S. aureus*; dane dotyczące działania przeciwbiofilmowego w porównaniu z odnotowaną redukcją biomasy o 46,68% i 63,22% dla *A. baumannii* przy stężeniu 32 µM; oraz skuteczność powłoki alginianowej w porównaniu z warstwami alginianu sodu nasyconymi ekstraktem z kasztana oraz cząstkami czwartorzędowego amoniowego związku ligniny i aldehydu cynamonowego. Ten zwyczaj kalibracji wyników względem zewnętrznych punktów odniesienia jest cechą charakterystyczną rozważań napisanych przez osobę, która rozumie wartość przedstawianych przez siebie danych liczbowych.

Rozumowanie mechanistyczne jest miejscami naprawdę dobre. Argument łączący przywróconą aktywność LyeTx I mnΔK z protonowaniem ponownie wprowadzonej reszty lizyny oraz spostrzeżenie, że utrata aktywności w wyniku acetylacji N-końca jest zgodna z mechanizmem zależnym od ładunku, stanowi solidne rozumowanie oparte na zależności struktura-aktywność. Analiza domeny lektynowej białka FimH, w ramach której w obszarze wybrzuszenia β zidentyfikowano Gln59 oraz Gln143 jako reszty biorące udział w zmianie konformacji i stabilizacji stanu powinowactwa, wskazuje, że kandydat zrozumiał budowę białka, na którym przeprowadzał dokowanie, a nie ograniczył się jedynie do wykonania obliczeń. Fragment dotyczący chropowatości powierzchni jest sformułowany z dużą starannością: kandydat przytacza podstawowe publikacje na ten temat, odnosi do nich zmierzoną przez siebie chropowatość powierzchniową wynoszącą 317 nm, a następnie wyraźnie zaznacza, że skuteczność przeciwbakteryjna nie zależy wyłącznie od chropowatości oraz że opisywane wpływy hydrofilowości na adhezję są dwukierunkowe. Ta odmowa przyjęcia wyjaśnienia opartego na jednym parametrze stanowi przejaw dojrzałości w pisaniu tekstów naukowych.

Oświadczenie dotyczące ograniczeń na zakończenie rozdziału ma charakter konkretny, a nie schematyczny. Wskazuje ono na brak badań przeciwbakteryjnych *in vivo*, niestabilność proteolityczną w moczu, wyniki badań nerkowych przy najwyższej dawce, ograniczenie oceny toksyczności dla układu moczowego, brak grup kontrolnych w dokowaniu, osadzanie układu alginianowego na płaskich próbkach zamiast na cewniku oraz ograniczenie końcowych badań przeciwbakteryjnych do bakterii bez grzybów. Kandydat, który wymienia te kwestie bez podpowiedzi, jest kandydatem rozumiejącym własną pracę.

Poniżej przedstawiono sześć uwag krytycznych dotyczących tego rozdziału.
[koniec strony 10 z 24]

Znaczna część tekstu stanowi powtórzenie wyników przedstawionych już w rozdziale III, w kilku przypadkach w postaci danych liczbowych i niemal dosłownie. Akapity dotyczące spożycia żywności i makroskładników odżywczych, procentowego hamowania wzrostu *S. aureus* i *E. coli* oraz logarytmicznej redukcji liczby czterech patogenów związanych z cewnikami stanowią raczej powtórzenie rozdziału III, a nie jego interpretację. Skrócenie tego rozdziału poprawiłoby jego jakość.

Kilka twierdzeń wykracza poza zakres dowodów. Stwierdzenie, że „badania obliczeniowe wykazały, iż region końca C wykazuje działanie przeciwbiofilmowe i antyadhezyjne", przypisuje pozycji

dokowania wagę odkrycia biologicznego. Twierdzenie, że powłoki wykazały „integralność oraz brak rozwarstwiania i pękania podczas obsługi lub długotrwałego przechowywania, co wskazuje na silną adhezję", nie znajduje potwierdzenia w żadnych opublikowanych wynikach badań adhezji ani testów przechowywania. Oba stwierdzenia należy usunąć lub przeformułować jako spostrzeżenia.

W akapicie poświęconym ADMET przewidywania oparte na modelu małocząsteczkowym traktuje się jako dowód potwierdzający korzystny profil farmakokinetyczny peptydu oraz podano dwa niespójne zestawy parametrów. Ponieważ peptyd został scharakteryzowany eksperymentalnie zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, a jego zamierzone zastosowanie dotyczy powłoki powierzchniowej, a nie leku o działaniu ogólnoustrojowym, materiał ten nie wnosi żadnej wartości dodanej.

Jedno porównanie jest logicznie odwrócone: analog acetylowany, o wartości MIC_{50} wynoszącej 64 µM, opisano jako posiadający wartość „niższą niż LyeTx I mnΔK", którego MIC_{50} wynosi 2 µM. Wyższe minimalne stężenie hamujące oznacza mniejszą siłę działania.

Wskaźnik selektywności jest przywoływany dwukrotnie, w sposób wzajemnie sprzeczny, i nigdy nie został obliczony. W jednym fragmencie stwierdza się, że peptyd jest mniej toksyczny dla komórek nerkowych, „ponieważ jego wskaźnik selektywności był znacznie niższy w porównaniu z komórkami UPEC"; w innym, to samo porównanie daje „wysoki wskaźnik selektywności". Na podstawie podanej wartości CC_{50} wynoszącej 32,72 µM oraz MIC_{50} wynoszącej 2 µM wskaźnik ten wynosi około 16, co potwierdza argumentację wnioskodawcy i powinno zostać po prostu podane.

Omówienie mechanizmu działania poli-L-lizyny opiera się na literaturze dotyczącej ε-poli-L-lizyny, krótkiego polimeru pochodzenia mikrobiologicznego, podczas gdy w metodologii określono poli-L-lizynę o masie cząsteczkowej od 150 000 do 300 000 g/mol. Oba materiały różnią się pod względem charakterystyki ładunku, długości łańcucha oraz profilu toksyczności, a przytoczone mechanizmy działania – w tym destabilizacja błony komórkowej na zasadzie „dywanu" oraz opisane oddziaływania na strukturę peptydoglikanu i szlaki metaboliczne – nie mogą być bez zastrzeżeń przenoszone z jednego materiału na drugi.
[koniec strony 11 z 24]

Pomimo tych krytycznych uwag dyskusja spełnia swoją funkcję. Zawiera interpretację wyników badań, odnosi je do dotychczasowej literatury przedmiotu oraz w sposób szczery wskazuje, czego nie udało się ustalić w ramach niniejszej pracy.

8. Praktyczne zastosowanie uzyskanych wyników badań

Trzy wyniki niniejszej pracy mają bezpośrednie zastosowanie praktyczne.

Wiedza dotycząca procesu stanowi wynik, który najszybciej można wykorzystać w praktyce. W pracy ustalono zestaw parametrów roboczych dla ultradźwiękowego natryskiwania powłok biopolimerowych na silikonowe urządzenia urologiczne: przesuw dyszy z prędkością 5 mm/s, natężenie przepływu 0,25 cm^3/min, obrót dyszy z prędkością 90 obr./min, wzbudzenie o częstotliwości 60 kHz przy mocy 3 W dla poli(alkoholu winylowego) oraz 7,5 W dla alginianu sodu, powietrze rozpylające pod określonym ciśnieniem, przy czym do uzyskania jednolitej powłoki z poli(alkoholu winylowego) na cewniku potrzeba jedenastu warstw, a w przypadku systemów alginianowych na płaskim silikonie aktywowanym plazmą – od trzydziestu do trzydziestu pięciu warstw. Kandydat udokumentował również uzyskaną chropowatość, skład pierwiastkowy oraz zwilżalność na każdym etapie. Są to informacje inżynieryjne o charakterze wielokrotnego zastosowania, mające zastosowanie do innych środków i innych urządzeń silikonowych, poparte uzasadnionym porównaniem z powlekaniem przez zanurzenie, odlewaniem kroplowym oraz obróbką immersyjną pod kątem kontroli grubości, powtarzalności oraz przydatności do geometrii rurowych.

Cewnik pokryty poli(alkoholem winylowym) z poli-L-lizyną stanowi wynik najbardziej zbliżony do praktycznego zastosowania. Został on wyprodukowany na komercyjnym dwukierunkowym cewniku Foleya i zmniejszył żywotność E. *coli, S. epidermidis* oraz *C. albicans* w sposób zależny od stężenia, przy czym odsetek żywych komórek spadł z 65 ± 4 % do poniżej 30 ± 1 % w przypadku *E. coli* oraz z 70 ± 3 % do 1,1 ± 0,1 % w przypadku *S. epidermidis* przy najwyższym stężeniu polimeru, a żywotność fibroblastów utrzymała się na poziomie od 83 ± 1 % do 90 ± 2 %. Poli-L-lizyna jest sprawdzonym, niedrogim i dobrze znanym pod względem regulacyjnym materiałem, co sprawia, że jest to kierunek badań o najkrótszej drodze do uzyskania produktu.

Alginian sodu z powłoką LyeTx I mnΔK stanowi potwierdzoną koncepcję. Hamował on wzrost *S. aureus* i *E. coli* odpowiednio o 36,43 ± 20,31 % i 56,29 ± 5,86 % w stosunku do silikonu niepowlekanego, zmniejszył liczbę żywych drobnoustrojów czterech patogenów związanych z cewnikami o 0,61 ± 0,22 do 0,99 ± 0,08 log oraz utrzymał żywotność fibroblastów na poziomie 84,9 ± 8,1 %. Wynik ten potwierdza, że peptyd można nanosić tą metodą na powierzchnię silikonową bez utraty mierzalnej aktywności przeciwbakteryjnej.

Należy właściwie ocenić praktyczne znaczenie trzeciego wyniku. Zmniejszenie o około jeden rząd wielkości oraz hamowanie wzrostu w zakresie od 36 do 56 % są wymierne i statystycznie istotne, jednak nie osiągają one poziomu redukcji o dwa rzędy wielkości, jakiego zwykle oczekuje się od powierzchni antybakteryjnej zgodnie z normami ISO 22196 lub JIS Z 2801, a po dwunastu dniach przebywania w moczu aktywność ta staje się nie do odróżnienia od kontroli polimerowej. Własna ocena zawarta w rozprawie, zgodnie z którą praca ta stanowi podstawę do późniejszego zastosowania powłoki w cewniku moczowym, jest trafną charakterystyką. W skali gotowości technologicznej powłoka peptydowa znajduje się na poziomie laboratoryjnego potwierdzenia koncepcji, przy czym powłoka z poli(alkoholu winylowego) jest nieco bardziej zaawansowana dzięki zastosowaniu jej w rzeczywistym urządzeniu.
[koniec strony 12 z 24]

W pracy doktorskiej nie poruszono kwestii własności intelektualnej. W tekście nie pojawiają się żadne wnioski patentowe, zgłoszenia wynalazków ani rozważania dotyczące swobody działania, a w rozdziale VI wymieniono publikacje, referaty konferencyjne i nagrody, ale nie odnotowano żadnych zgłoszeń. Ponieważ kandydat twierdzi, że peptyd ten nie był dotychczas badany pod kątem zastosowania w powłokach implantów, a także ponieważ odpowiednie wyniki zostały opublikowane, kwestia, czy jakakolwiek część niniejszej pracy nadal podlega ochronie oraz czy przed publikacją rozważano możliwość uzyskania ochrony, ma istotne znaczenie dla pracy doktorskiej o charakterze translacyjnym.

9. Nieprawidłowości, błędy i nieprecyzyjne sformułowania

Zgodnie z § 2.5.1h oraz § 2.7 umowy, odnotowane błędy i nieścisłości zostały poniżej wymienione w całości. Zostały one pogrupowane według charakteru, przy czym na początku umieszczono dwie pozycje wymagające weryfikacji danych źródłowych. Żadna z pozycji w grupach od B do F nie ma wpływu na merytoryczną wartość naukową pracy; wymagają one jednak korekty przed złożeniem wersji ostatecznej.

A. Pozycje wymagające weryfikacji danych

1. Kąt zwilżania wodą cewnika w stanie pierwotnym, sekcja 4.12. Dla niepowlekanego cewnika silikonowego podano wartość 176,4 ± 2,0°. Kąt tej wielkości oznacza niemal całkowity brak zwilżania i nie jest charakterystyczny dla gładkiego silikonu klasy medycznej, którego wartość zazwyczaj mieści się w przedziale 100–115°. W tej samej rozprawie w sekcji 4.18 podano wartość 127,5 ± 2,7° dla silikonu niepowlekanego. Pomiar ten należy zweryfikować; opiera się na nim argumentacja dotycząca hydrofilizującego działania powłoki.

2. Zakres dawek *in vivo*, sekcje 3.6 i 4.9. Wymieniono dawki 1, 5 i 10 µg/kg podawane dootrzewnowo, z odniesieniem do wytycznych OECD nr 423 dotyczących badań. Wytyczne te obejmują zakres od 5 do 2000 mg/kg. Peptyd powodujący podwyższony poziom kreatyniny w surowicy i łagodną degenerację kanalików nerkowych przy dawce 10 µg/kg byłby niezwykle toksyczny, co jest niezgodne z wartością CC_{50} wynoszącą 32,72 µM (około 60 µg/mL), zmierzoną w komórkach HEK-293, a także z zawartym w samej rozprawie wnioskiem, że peptyd jest dobrze tolerowany. Albo jednostka została podana nieprawidłowo, albo dozometria wymaga wyjaśnienia. W obecnym brzmieniu tekstu oba zestawy danych nie mogą być jednocześnie poprawne.
[koniec strony 13 z 24]

B. Nomenklatura i terminologia

3. W całym tekście stosowany jest termin „krzem" zamiast „silikon". Podłoże stanowi silikon klasy medycznej, czyli elastomer polisiloksanowy, a nie pierwiastek krzem. Nieprawidłowa forma pojawia się we wszystkich trzech streszczeniach oraz wielokrotnie w treści artykułu, m.in. w wyrażeniach „krzem klasy medycznej", „arkusze krzemowe", „cewniki krzemowe", „płaskie arkusze krzemowe" oraz w odpowiadających im formach w streszczeniu i życiorysie. Wymaga to korekty w całym tekście. Dane ze spektroskopii dyspersji energetycznej, które słusznie wskazują na obecność pierwiastkowego krzemu pochodzącego z łańcucha siloksanowego, należy sformułować w taki sposób, aby nie dopuścić do pomylenia tych dwóch znaczeń.

4. α-poli-L-lizyna a ε-poli-L-lizyna. W sekcjach 3.8 i 3.10 określono poli-L-lizynę o masie cząsteczkowej od 150 000 do 300 000 g/mol, natomiast w sekcji 4.14 i rozdziale IV wielokrotnie pojawiają się odniesienia do ε-PL i ε-PLL oraz powołuje się na literaturę dotyczącą ε-poli-L-lizyny, która dotyczy krótkiego polimeru mikrobiologicznego składającego się z około 25 do 35 reszt. Oba materiały różnią się pod względem chemicznym. Zastosowany materiał powinien zostać jednoznacznie zidentyfikowany wraz z podaniem dostawcy oraz numeru katalogowego lub numeru CAS, a omówienie mechanizmu działania powinno zostać odpowiednio dostosowane.

5. Poli-L-lizyna jest w całym tekście opisana jako „modelowy peptyd przeciwdrobnoustrojowy". Jest to polikationowy polipeptyd stosowany w niniejszym opracowaniu jako substytut środka przeciwdrobnoustrojowego. Prawidłowe sformułowanie brzmiałoby: „modelowy polimer kationowy" lub „substytut środka przeciwdrobnoustrojowego".

6. Wykaz skrótów, strona xv: „Glu – glutamina". Skrót „Glu" oznacza kwas glutaminowy lub glutaminian; glutamina to „Gln". Ten sam skrót jest używany oddzielnie w odniesieniu do glukozy w tabeli 5, dlatego w jednym z tych dwóch przypadków należy zastosować inny skrót.

7. Wykaz skrótów, strona xvi: „LCN2 – białko przenoszące lipidy-2". LCN2 oznacza lipokalinę-2.

8. Cel 8, sekcja 2.16, brzmi: „ciągła powłoka poliwinylowa (PVA)". Polimerem tym jest poli(alkohol winylowy).

9. Sekcja 3.8: „0,8–0,33% Cacl 2". Należy to zapisać jako $CaCl_2$, zachowując spójność w stosowaniu indeksów dolnych, a zakres stężenia podać w jednym kierunku.

10. W sekcji 3.1 stwierdzono, że masa cząsteczkowa i molowy współczynnik ekstynkcji zostały „określone empirycznie na podstawie pierwotnej sekwencji peptydowej". Wartości te zostały obliczone na podstawie sekwencji. Należy usunąć słowo „empirycznie".
[koniec strony 14 z 24]

C. Wewnętrzne niespójności i rozbieżności liczbowe

12. Sekcja 4.17: w tekście stwierdzono, że jednolitą powłokę z alginianu sodu uzyskano przy 35 warstwach, a następnie, że powłokę SA/LyeTx I mnΔK zoptymalizowano przy 30 warstwach. Te dwa stwierdzenia są ze sobą sprzeczne, dlatego należy wyraźnie podać liczbę warstw zastosowaną dla każdej z opisanych próbek.

13. Identyfikacja szczepu referencyjnego: w sekcji 3.2 jako szczep referencyjny wskazano *E. coli* ATCC 25922; w przypisie do tabeli 5 podano ATCC 39218.

14. Źródła charakterystyki oporności: w tekście sekcji 3.2 przytoczono Paiva i in. 2012, natomiast w przypisie do tabeli 3 przytoczono PAIVA i in. 2020.

15. Tabela 7 i towarzyszący jej tekst w sekcji 4.8 zawierają rozbieżności dotyczące przedziałów czasowych. W tabeli podano 32 µM w przedziale 1–6 h oraz 64 µM w przedziale 9–12 h; w tekście podano natomiast 32 µM po 1–3 h oraz 64 µM od 6 h, bez zmian do 9 h.

16. W sekcji 4.2 znajduje się zdanie podające dwie wartości dla jednego analogu: „Inne analogi, takie jak Ac-LyeTx I mnΔK, wykazały MIC_{50} wynoszące 64 µM, a LyeTx I mnΔKL wykazały MIC wynoszące odpowiednio 4 µM i 2 µM". Zdanie to należy przeredagować tak, aby wartość każdego analogu została podana tylko raz. LyeTx I mnΔKwN pojawia się w tabeli 6, ale w tym miejscu został pominięty w tekście.

17. Rozdział IV: pochodzenie LyeTx I mnΔK opisano jako skrócenie o dziewięć reszt z regionu końca C LyeTx I. Tabela 2 podaje 25 reszt dla prototypu i 15 dla LyeTx I mn, co sugeruje liczbę dziesięciu.

18. Wartość CC_{50} wynosząca 32,72 µM została podana na końcu sekcji 4.8, dotyczącej stabilności, a następnie ponownie na początku sekcji 4.9. Pierwsze wystąpienie tej wartości należy usunąć.

19. Podpis pod rysunkiem 16 opisuje różnice w przyroście masy ciała między grupami otrzymującymi różne dawki; w tekście głównym stwierdzono natomiast, że przyrost masy ciała nie różnił się między grupami ($p > 0,05$).

20. Podpis pod tabelą 8 stwierdza, że spożycie pokarmu było „nieznacznie zmniejszone u zwierząt z grupy kontrolnej". Dane wskazują na zmniejszone spożycie w grupach poddanych działaniu substancji, przy czym najwyższe spożycie odnotowano w grupie kontrolnej. Podpis stwierdza również, że wydajność paszowa „nieco wzrosła u wszystkich zwierząt doświadczalnych", czego nie potwierdza wartość 2,41 podana w tabeli dla grupy otrzymującej dawkę 5 µg/kg.

21. Tabela 8: wartość spożycia lipidów dla dawki 1 µg/kg wynosi 0,20 ± 0,21 g/g, przy czym odchylenie standardowe przekracza średnią; wartość wydajności paszy dla dawki 5 µg/kg wynosi 2,41 ± 0. Obie wartości wydają się być błędami transkrypcyjnymi.

22. Podpis pod rysunkiem 18 odnosi się do zmian histologicznych przy dawkach 5 i 10 µg/kg; w tekście głównym oraz w wnioskach przypisuje się je dawce 10 µg/kg.
[koniec strony 15 z 24]

23. W rozdziale IV dwukrotnie podano parametry ADMET o różnych wartościach: wiązanie z białkami osocza jako 23 % i jako 22,25 %; przenikanie przez barierę krew-mózg jako 0,018 i jako 0,036. Objętość dystrybucji wynosząca 0,601 pojawia się wyłącznie w drugim zestawie danych i w żadnym z przypadków nie została wymieniona w sekcji 4.5.

24. Wskaźnik selektywności został w jednym fragmencie scharakteryzowany jako „znacznie niższy w porównaniu z UPEC" jako dowód zmniejszonej toksyczności, a w innym jako „wysoki wskaźnik selektywności". Te dwa stwierdzenia są sprzeczne, a wskaźnik ten nigdy nie został obliczony. Na podstawie podanych wartości wynosi on około 16.

25. W sekcji 4.11 stwierdzono, że jednolitość powłoki potwierdza brak pasm rozciągania i drgań krzemu w widmach poli(alkoholu winylowego), podczas gdy w sekcji 4.10 podano że dla tych samych próbek zawartość krzemu, określona metodą spektroskopii dyspersji energetycznej, wynosi 9–10% atomowych.

26. W sekcji 4.17 podano znacznie wyższą zawartość resztkowego krzemu dla powłoki SA/LyeTx I mnΔK niż dla powłoki z alginianu sodu (25,03 ± 1,57 w porównaniu z 19,33 ± 0,79 % atom., p =

0,0029), opisując jednocześnie obie powłoki jako wskazujące na skuteczne pokrycie powierzchni. Nie omówiono wpływu tej różnicy na grubość lub kompletność powłoki.

27. W tabeli 4 preparat alginianowy oznaczono jako „SA/PLL", podczas gdy chodzi o SA/LyeTx I mnΔK, a kolumna zatytułowana „Stosunek masowy LyeTx I mnΔK do SA" zawiera wartość masy na objętość wynoszącą 1 mg : 10 ml. Kolumnę tę należy przemianować na „stężenie" i wyraźnie podać stosunek masowy peptydu do polimeru.

28. W sekcji 1 wstępu wśród zalet peptydów przeciwdrobnoustrojowych wymieniono „stabilność proteolityczną". Jest to sprzeczne z danymi dotyczącymi stabilności w moczu zawartymi w samej pracy doktorskiej oraz z późniejszym stwierdzeniem w tym samym wstępie, że peptydy te charakteryzują się słabą stabilnością *in vivo*.

29. Własna publikacja kandydata dotycząca układu poli(alkoholu winylowego) jest cytowana w całym tekście jako Maryam i in. 2026, a w części wstępnej wymieniona jako „Surface and Coatings Technology", 2025, 521, 133094.

30. W sekcji 3.5 do badania przeciwprzyczepności wykorzystano segmenty cewnika cewkowego z poli(chlorku winylu), podczas gdy we wszystkich pracach dotyczących powlekania zastosowano silikon. Różnicę w podłożu należy zaznaczyć w miejscach, w których porównuje się wyniki.

D. Błędy w sformułowaniach i wnioskach

31. Rozdział IV: „dzięki badaniom obliczeniowym wykazano, że region końca C wykazuje działanie przeciwbiofilmowe i przeciwprzyczepne". Obliczenia dokujące nie pozwalają na wykazanie efektu biologicznego.

[koniec strony 16 z 24]

32. Rozdział IV: stwierdzono, że powłoki wykazały „integralność oraz brak rozwarstwiania i pękania podczas użytkowania lub długotrwałego przechowywania, co wskazuje na silną przyczepność". Nie przedstawiono jednak wyników żadnych badań przyczepności ani badań dotyczących przechowywania. Twierdzenie to należy wycofać lub określić je jako spostrzeżenie poczynione podczas obsługi.

33. Rozdział IV: analog acetylowany, o wartości MIC_{50} wynoszącej 64 µM, opisano jako wykazujący wartość „niższą niż LyeTx I mnΔK", którego wartość MIC_{50} wynosi 2 µM. Wyższe minimalne stężenie hamujące oznacza mniejszą siłę działania.

34. W rozdziale IV stwierdza się, bez poparcia danymi, że zmniejszenie spożycia pokarmu może odzwierciedlać zakłócenie „działania receptorów, enzymów lub szlaków sygnałowych, co może prowadzić do zmniejszenia aktywności komórkowej, ekspresji białek lub sygnału testowego", a także że wyniki badań nerek mogą wiązać się z interakcją z podocytami. Oba stwierdzenia należy usunąć lub wyraźnie oznaczyć jako niesprawdzone hipotezy. W rozprawie stwierdza się wprawdzie, że proponowane mechanizmy wymagają dalszych badań, co łagodzi ten problem, ale go nie rozwiązuje.

35. W sekcji 4.14 podano wyniki dokowania wynoszące −8,3608 i −7,8268 bez podania jednostek miary oraz bez określenia funkcji punktacji.

36. W sekcji 2.1 stwierdzono, że stosowanie cewników cewkowych sięga ponad 3500 lat wstecz, a trzy zdania dalej, że „pierwsze doniesienie o stosowaniu cewników opublikowano w 1960 r.". Drugie stwierdzenie powinno odnosić się do pierwszego doniesienia o bakteriurii związanej z cewnikiem u pacjentów hospitalizowanych.

37. W sekcji 3.6 przytoczono normę „ISO 10993:2009" bez wskazania jej części; w przypadku cytotoksyczności *in vitro* jest to norma ISO 10993-5. Cytat w tekście „(Standardization, 2009)" traktuje nazwę organu wydającego jako nazwisko autora i należy to poprawić zarówno w tekście, jak i w wykazie literatury.

E. Kwestie redakcyjne, typograficzne i formatowanie

[części cytatów nie przetłumaczono na j. polski, jeśli uwagi dotyczą wyłacznie wersji angielskiej - przyp. tłum.]

39. Numeracja rozdziałów: „Rozdział V" oznacza zarówno Wnioski, jak i rozdział poświęcony wynikom badań w głównej części tekstu, który w spisie treści oznaczono jako Rozdział VI. Numery rozdziałów są również prowadzone równolegle z dziesiętnymi numerami sekcji bez określenia relacji między nimi, w związku z czym Rozdział III rozpoczyna się od Sekcji 4.

40. Spis treści: Sekcja 3.13 jest wymieniona na stronie 49, a znajduje się na stronie 40; Rozdział II jest wymieniony na stronie 35, podczas gdy Sekcja 3 rozpoczyna się na stronie 32; wykaz publikacji jest wymieniony na stronie xviii, a znajduje się na stronie xx. Spis treści należy sporządzić ponownie po ustaleniu paginacji.

41. Przed wykazem publikacji znajdują się dwie puste strony: xviii i xix.
[koniec strony 17 z 24]

42. Spis treści: „2.3. Pathogens in involved in CAUTIs" (należy usunąć słowo „in"); „3.17. Stabulity of SA/LyeTx I mnΔK coating" (Stability [stabilność]).

43. Sekcja 3.5: „1 µg/mL AMP was added to the tubse" (tubes [probówki]).

44. Sekcja 3.6: „anesthesia was given to given to animals to euthanize them" (powtórzone słowa).

45. Sekcja 3.7: „Aliqoutes were removed" (aliquots [alikwoty]).

46. Sekcja 4.5 i rozdział IV: „ "low probability of inhibition (0.093." Nawias nie został zamknięty.

47. Sekcja 3.11: „ increasing ultrasonic power to 7.5 W from 3 W" brzmi jaśniej jako „from 3 W to 7.5 W".

48. Tabela 5: blok nagłówków kolumn jest niewyrównany względem danych, H_2S pojawia się w osobnym wierszu, a w legendzie brakuje słowa „Gas [gaz]". Należy ponownie sformatować tabelę tak, aby każda kolumna jednoznacznie odpowiadała odpowiedniemu wpisowi w legendzie.

49. Rysunki od 29 do 33, 36 i 37: etykiety osi i legendy są nieczytelne w rozmiarze, w jakim zostały przedstawione w recenzowanej wersji. Na rysunku 31B powtarza się etykieta osi „Uncoated", podczas gdy zamierzone były etykiety „uncoated", „SA" oraz „SA/AMP". Należy dostarczyć rysunki w jakości wektorowej oraz skorygować etykiety osi.

50. W znacznej liczbie zdań brakuje przedimka, czasownika w formie osobowej lub zgodności, m.in. w zdaniach: „The first report of catheter usage published in 1960" [Pierwsze doniesienie dotyczące stosowania cewników opublikowano w 1960 r.], „Interactions of pathogens, which can be either synergistic or antagonistic" [Interakcje patogenów, które mogą mieć charakter synergiczny lub antagonistyczny], „Pathogens associated with CAUTI generally exhibit lower virulence" [Patogeny związane z CAUTI wykazują zazwyczaj niższą zjadliwość], po czym następuje zdanie: „However, the process of catheter insertion enables them to establish infection quickly with a less virulence profile" [Jednak proces wprowadzenia cewnika umożliwia im szybkie wywołanie zakażenia przy niższym profilu zjadliwości], oraz „The molecular weight of PLL I used in this study" [Masa cząsteczkowa PLL I zastosowanego w niniejszym badaniu].

F. Cytowanie

51. Styl cytowania nie jest spójny w obrębie tekstu: cytaty w tekście są podawane w formacie „autor-data", podczas gdy lista bibliograficzna jest uporządkowana według porządku elementów typowego dla stylu Vancouver, z rokiem umieszczonym po skróconym tytule czasopisma.

10. Czy praca doktorska przedstawia oryginalne rozwiązanie problemu naukowego

Przedstawiony problem naukowy jest precyzyjnie zdefiniowany: kolonizacji mikrobiologicznej cewników urologicznych zakładanych na stałe nie można niezawodnie zapobiec za pomocą istniejących powłok, zaś peptydy przeciwdrobnoustrojowe – które charakteryzują się wymaganą aktywnością oraz niską skłonnością do selekcji oporności – mają ograniczone zastosowanie ze względu na swoją niestabilność oraz brak sprawdzonych metod nanoszenia ich na urządzenia silikonowe bez utraty ich funkcjonalności.

[koniec strony 18 z 24]

W mojej ocenie rozprawa przedstawia oryginalne rozwiązanie tego problemu w rozumieniu art. 187 [Ustawy o szkolnictwie wyższym I nauce]. Termin ten należy właściwie rozumieć jako wymagający oryginalnego wkładu w postaci nowej wiedzy naukowej, a nie całkowitego rozwiązania problemu stosowanego, a poniższe elementy pracy spełniają ten wymóg.

Pierwszym z nich jest seria zależności struktura-aktywność. Przetestowano siedem analogów LyeTx I na panelu dziesięciu klinicznych izolatów *E. coli* wywołujących infekcje dróg moczowych, opornych na chinolony, o znanym genotypie oporności. Seria ta wykazała, że skrócenie prototypu do piętnastu reszt powoduje wzrost wartości MIC_{50} z 4 µM do 64 µM, że ponowne wprowadzenie pojedynczej lizyny w pozycji 5 przywraca i zwiększa aktywność do 2 µM, a także że acetylacja końca N tego analogu niweluje większość uzyskanego wzrostu aktywności. Są to nowe, wewnętrznie spójne i możliwe do interpretacji pod kątem mechanizmu działania informacje dotyczące określonej rodziny peptydów, które wskazują LyeTx I mnΔK jako najbardziej aktywnego członka tej rodziny w zwalczaniu tej grupy patogenów.

Drugim osiągnięciem jest wykazanie, że proces natryskiwania ultradźwiękowego pozwala na osadzenie powłoki biopolimerowej zawierającej peptydy na silikonie klasy medycznej przy zachowaniu funkcji przeciwbakteryjnej, wraz z optymalizacją zestawu parametrów i liczby warstw, co zapewnia powtarzalność wyników. Rozprawa ta jest, o ile mi wiadomo, pierwszym badaniem dotyczącym LyeTx I mnΔK jako środka związanego z powierzchnią urządzenia medycznego, a nie jako wolnego środka przeciwbakteryjnego lub preparatu hydrożelowego, a połączenie alginianu sodu z LyeTx I mnΔK zastosowane tą metodą wydaje się być nowością.

Oryginalność dotyczy raczej połączenia składników i metod pomiarowych niż samej koncepcji. Matryce alginianowe, powłoki cewników z poli-L-lizyną oraz nanoszenie biopolimerów metodą natrysku ultradźwiękowego są już oddzielnie ugruntowane, a kandydat nie twierdzi inaczej. Proponowany mechanizm przeciwprzyczepnościowy, polegający na interakcji z adhezyną FimH, pozostaje hipotezą popartą jedynie niekontrolowanymi obliczeniami i nie zalicza się do oryginalnych wkładów, które uwzględniłem. Rozprawa nie rozwiązuje również postawionego w niej problemu praktycznego: powłoka w obecnej postaci nie zapewniłaby, by cewnik stały pozostawał wolny od kolonizacji przez okres istotny z klinicznego punktu widzenia. Nie jest to jednak kryterium ustawowe, a wiedza zawarta w rozprawie jest nowa, została prawidłowo przypisana i przyczynia się do rozwoju tej dziedziny.

[koniec strony 19 z 24]

11. Ogólna wiedza teoretyczna oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych

11.1 Ogólna wiedza teoretyczna w danej dyscyplinie

Praca doktorska wykazuje, że kandydat posiada ogólną wiedzę teoretyczną na wymaganym poziomie. Kompetentnie porusza się po kilku odrębnych obszarach wiedzy: epidemiologii klinicznej i ekonomii zdrowia w zakresie zakażeń związanych z cewnikami; molekularnej patogenezie uropatogennych bakterii *E. coli*, w tym strukturach i funkcjach adhezyn fimbrialnych oraz roli domeny lektynowej FimH; strukturach, mechanizmie działania i ograniczeniach peptydów przeciwdrobnoustrojowych; chemii polimerów oraz dostępnych strategii koniugacji peptydów z

polimerami; a także naukach o powierzchniach związanych z adhezją mikroorganizmów, w tym literaturze dotyczącej chropowatości i zwilżalności oraz zawartych w niej sprzecznościach.

Szczególnym dowodem opanowania teorii jest rozumowanie oparte na zależnościach struktura-aktywność, łączące ponownie wprowadzoną resztę lizyny z aktywnością zależną od ładunku oraz utratą aktywności w wyniku acetylacji; zidentyfikowanie reszt Gln59 i Gln143 jako reszt mających wpływ na zmianę konformacji i stan powinowactwa białka FimH, co wskazuje, że kandydat zrozumiał obiekt badań, a nie ograniczył się jedynie do przeprowadzenia obliczeń; oraz wyraźne odrzucenie w rozdziale IV przypisywania skuteczności przeciwbakteryjnej jakiemukolwiek pojedynczemu parametrowi powierzchniowemu, poparte cytowaniem badań, w których hydrofilowość działa w obu kierunkach. Dwa artykuły przeglądowe, których autorem jest wyłącznie kandydat, opublikowane w czasopismach „Applied Surface Science Advances" oraz „Journal of Infection and Public Health", stanowią dodatkowy dowód na umiejętność syntezy wiedzy w danej dziedzinie.

11.2 Umiejętność samodzielnego prowadzenia prac naukowych

Warunek ten został spełniony, w mojej ocenie, w sposób przekonujący.

Kandydat jest pierwszym lub współpierwszym autorem wszystkich pięciu publikacji związanych z pracą doktorską. Dwie z nich – artykuł przeglądowy w czasopiśmie „Applied Surface Science Advances" z jednym współautorem oraz artykuł przeglądowy w czasopiśmie „Journal of Infection and Public Health" – stanowią syntezy, za które ponosi główną odpowiedzialność. W rozdziale VI odnotowano dwanaście wystąpień konferencyjnych, w tym wykłady na zaproszenie oraz prezentacje ustne wygłoszone zarówno w Polsce, jak i w Brazylii, sześć kolejnych publikacji wynikających z pracy na uczelni macierzystej, udział w finansowanych projektach badawczych oraz dwa wnioski badawcze, które kandydat przygotował i złożył w ramach krajowych konkursów. Fakt, że żaden z tych wniosków nie uzyskał finansowania, nie ma znaczenia dla rozpatrywanej kwestii: samo sformułowanie i złożenie tych wniosków stanowi dowód zdolności do samodzielnego opracowania programu badawczego.

Okoliczności praktyczne związane z pracą potwierdzają ten wniosek. Program eksperymentalny został zrealizowany w dwóch instytucjach na dwóch kontynentach w ramach umowy o wspólnym nadzorze naukowym, z udziałem kilku współpracujących laboratoriów zajmujących się mikrobiologią, analizą powierzchni, badaniami na zwierzętach oraz histologią. Prace o takim zasięgu nie mogą być prowadzone bez umiejętności planowania, koordynacji działań ze specjalistami spoza własnej grupy oraz zapewnienia spójności metodologicznej we wszystkich ośrodkach.

Uznanie instytucjonalne odnotowane w rozdziale VI, w tym nagroda dla najlepszego doktoranta na uniwersytecie przyjmującym za lata 2024 i 2025, jest zgodne z tą oceną.

12. Indywidualny wkład kandydata w prace współautorskie

Rozprawa ma formę monografii, a nie formalnie niezależnej i odrębnej części dzieła zbiorowego. Postanowienie § 2.5.2 umowy ma jednak zastosowanie co do istoty, ponieważ treść eksperymentalna ściśle odpowiada publikacjom współautorskim, z których dwie mają współautorstwo na pierwszym miejscu, a także ponieważ znaczna część tabel i rysunków pochodzi właśnie z tych publikacji.

Kandydat jest pierwszym lub współpierwszym autorem każdej publikacji związanej z rozprawą oraz jedynym głównym autorem trzech przeglądów naukowych stanowiących podstawę rozdziału I. Taki podział ról jest zgodny z pełnieniem przez niego wiodącej roli w całym procesie.

Sytuacja, jaką można ustalić na podstawie samej rozprawy, przedstawia się następująco.

Zakres pracy doktorskiej	Odnośna publikacja	Stanowisko dotyczące autorstwa
Wolny peptyd: wrażliwość, biofilm, działanie przeciwhadhezyjne, dokowanie, toksyczność, stabilność w moczu (sekcje 4.1–4.9)	Microbial Pathogenesis, 2026, 108404	Współautorstwo z W. G. Limą, oznaczone jako równy udział
Powłoka z PVA/PLL na cewnikach (punkty 4.10–4.16)	Surface and Coatings Technology, 2025, 521, 133094	Współautorstwo z S. Maryam, oznaczone jako równy udział
Powłoka SA/LyeTx I mnΔK na silikonie (rozdziały 4.17–4.23)	Nie podano tej informacji w części wstępnej publikacji	Wydaje się, że jest to praca opublikowana tutaj po raz pierwszy
Przegląd literatury (rozdział I)	Applied Surface Science Advances, 2023, 18, 100532; Journal of Infection and Public Health, 2024, 17(2), 189–203; Arab Journal of Basic and Applied Sciences, 2024, 31, 325–344	Pierwszy autor wszystkich trzech prac

13. Rozpatrzenie przyznania wyróżnienia

Zgodnie z § 2.5.3 umowy rozważyłem, czy rozprawa doktorska zasługuje na wyróżnienie, i proponuję, aby jej takie wyróżnienie przyznano.

Powody, które mogłyby uzasadniać taką propozycję, są uzasadnione i należy je odnotować. Lista publikacji dołączona do pracy doktorskiej jest imponująca jak na kandydata na stopień doktora – obejmuje pięć artykułów związanych z tematyką pracy, w których kandydat jest pierwszym lub współpierwszym autorem, z czego kilka ukazało się w czasopismach o znacznym prestiżu, a także sześć dalszych publikacji oraz dwanaście referatów konferencyjnych.

Zakres prac, obejmujący zagadnienia od zależności struktura-aktywność peptydów, poprzez prognozowanie obliczeniowe, toksykologię zwierzęcą i receptury polimerowe, aż po charakterystykę powierzchni i optymalizację procesów, jest niezwykły w przypadku jednej pracy doktorskiej. Na uznanie zasługuje uczciwość intelektualna kandydata w przedstawieniu informacji dotyczących niestabilności w moczu oraz wyników badań nerek.

14. Wniosek

Wniosek z niniejszej recenzji jest POZYTYWNY.

Podsumowując, niniejszym stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o szkolnictwie wyższym i nauce (z późniejszymi zmianami) oraz zalecam zatwierdzenie rozprawy w celu przejścia do kolejnego etapu w dziedzinie nauk chemicznych. W szczególności:

1. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego z powodów przedstawionych w sekcji 10 niniejszej recenzji. Jej oryginalny wkład obejmuje: serię zależności struktura-aktywność, w której LyeTx I mnΔK uznano za najbardziej aktywny spośród siedmiu analogów przeciwko opornej na chinolony uropatogennej bakterii *Escherichia coli*; wykazanie, przy użyciu powtarzalnego zestawu parametrów, że proces natryskiwania ultradźwiękowego pozwala na osadzenie powłoki biopolimerowej zawierającej peptyd na silikonie klasy medycznej przy zachowaniu funkcji przeciwbakteryjnej; oraz ilościowe określenie, zarówno dla peptydu wolnego, jak i unieruchomionego, niestabilności proteolitycznej w moczu, która decyduje o powodzeniu tego podejścia.

2. Rozprawa wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w tej dziedzinie, z powodów przedstawionych w sekcji 11.1.
[koniec strony 22 z 24]

3. Rozprawa wykazuje zdolność kandydata do samodzielnego prowadzenia prac naukowych z powodów przedstawionych w sekcji 11.2, co uważam za przekonująco potwierdzone przez podział autorstwa, zakres rozpowszechnienia wyników, samodzielnie przygotowane wnioski badawcze oraz realizację programu w dwóch instytucjach i kilku współpracujących laboratoriach.

W związku z tym wnoszę o dopuszczenie rozprawy do publicznej obrony.

Niniejszej pozytywnej opinii towarzyszą następujące zalecenia. Dotyczą one jakości złożonego tekstu oraz kompletności dokumentacji:
1. Pięćdziesiąt jeden pozycji wymienionych w sekcji 9 należy poprawić przed złożeniem ostatecznej wersji pracy. Dwie pozycje z grupy A wymagają weryfikacji danych źródłowych. Jeżeli weryfikacja wykaże, że dawki podawane *in vivo* zostały błędnie podane, konieczne będzie przeredagowanie opisu toksykologicznego oraz oświadczenia dotyczącego bezpieczeństwa zawartego w rozdziale V.

2. Twierdzenia wskazane w sekcjach 7 i 8 jako wykraczające poza zakres dowodów powinny zostać skorygowane, w szczególności charakterystyka powłoki jako „sprawdzonego jako skutecznego sposobu zapewnienia działania przeciwbakteryjnego" oraz jej biokompatybilności jako „doskonałej", przy czym ta ostatnia opiera się na żywotności fibroblastów wynoszącej 84,9 ± 8,1 %, która nie różni się istotnie od wartości w grupie kontrolnej.

3. Przed złożeniem pracy zaleca się przeprowadzenie profesjonalnej korekty językowej.

4. W odniesieniu do części dotyczącej zastosowań praktycznych, ocenianej przez instytucję partnerską, dodanie sekcji poświęconej własności intelektualnej, kosztom i zwiększeniu skali produkcji oraz klasyfikacji regulacyjnej – zgodnie z wytycznymi zawartymi w sekcji 8 – znacznie wzmocniłoby wartość pracy doktorskiej.

Na koniec przedstawiam ocenę pracy jako całości. Jest to rozległa, wymagająca dużego nakładu pracy i rzetelnie przedstawiona praca doktorska. Jej słabe strony dotyczą głównie analitycznej charakterystyki powłoki oraz staranności, z jaką manuskrypt został dopracowany; jej mocne strony to rygor mikrobiologiczny, szeroki zakres programu badawczego, jakość upowszechniania wyników oraz gotowość kandydata do przedstawiania i konfrontowania wyników, które podważają jego własną hipotezę. Zidentyfikowanie i zmierzenie niestabilności proteolitycznej w moczu jako czynnika ograniczającego zastosowanie urządzeń urologicznych z powłoką peptydową stanowi bardziej użyteczny wkład w tę dziedzinę niż mniej szczera rozprawa, w której przedstawiono by wyłącznie korzystne wyniki.
[koniec strony 23 z 24]

Divinópolis/MG - Brazylia. 24 października 2026

[podpis odręczny nieczytelny]
Dr Paulo Afonso Granjeiro (UFSJ)
Recenzent

Ja, Małgorzata Sokołowska, tłumacz przysięgły języka angielskiego w Gliwicach, nr wpisu na listę tłumaczy przysięgłych TP/1509/05. Poświadczam zgodność niniejszego tłumaczenia z okazanym mi plikiem pdf sporządzonym w języku angielskim. Gliwice, dnia 3 listopada 2026 r. Repertorium nr 388/2026.

Elektronicznie podpisany przez
Małgorzata Sokołowska - tłumacz
przysięgły - TP/1509/05
2026.11.03 12:03:11 +01:00