



UNIWERSYTET  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU  
Wydział Farmaceutyczny  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Propedeutyki Medycyny i Profilaktyki Zakażeń  
p.o. Kierownik  
dr hab. Aleksander Deptuła, prof. UMK  
ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz  
e-mail: [a.deptula@cm.umk.pl](mailto:a.deptula@cm.umk.pl)  
tel. +48 608208231,

L.Dz.KPMiPZ/2021/01/01

Bydgoszcz, .07.01.2021 r.

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**Mgr Magdaleny Maciejewskiej pt. „Badanie krótkich lipopeptydów pod kątem ich potencjalnego zastosowania w profilaktyce i zwalczaniu infekcji oka związanych ze stosowaniem soczewek kontaktowych” przygotowanej pod opieką naukową promotora prof. dr hab. n. farm. Wojciecha Kamysza i promotora pomocniczego – dr n. farm. Małgorzaty Paduszyńskiej, w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.**

Soczewki kontaktowe są stosowane coraz częściej, nie tylko w celu korekcji wad wzroku, ale również w celach estetycznych – na przykład zmiany koloru tęczówki. W związku z tym, wzrasta również zapadalność na zakażenia narządu wzroku związane ze stosowaniem soczewek kontaktowych. Poszukiwanie alternatywnych do antybiotykoterapii metod profilaktyki i leczenia tych zakażeń w dobie narastającej lekooporności jest wysoce uzasadnione. Ponadto, duża część antybiotyków wykazuje ograniczoną aktywność wobec biofilmów wytwarzanych przez czynniki etiologiczne zakażeń narządu wzroku.

Podjęty przez Doktorantkę temat wpisuje się w nurt badań nad nowymi substancjami i biomateriałami, które będą w mniejszym stopniu kolonizowane przez potencjalnie patogeniczne drobnoustroje, a tym samym staną się bardziej bezpieczne, dodatkowo peptydy przeciwdrobnoustrojowe stanowią grupę związków o bardzo obiecujących właściwościach, ponieważ ich mechanizm działania różni się od mechanizmów działania większości leków przeciwdrobnoustrojowych – nie hamują one ważnych procesów życiowych w komórce bakteryjnej, ale pod wpływem różnych interakcji uszkadzają błonę komórkową. Dzięki temu



ryzyko, że drobnoustroje nabędą na nie oporność jest relatywnie niskie. Związki peptydowe wykazują aktywność *in vitro*, zarówno wobec planktonicznych form drobnoustrojów, jak również wobec biofilmów, jednak przeszkodą w ich powszechnym stosowaniu jest potencjalna toksyczność. Możliwe, że uda się w toku dalszych badań poprawić ich właściwości, aby mogłyby być stosowane miejscowo w leczeniu zakażeń lub w profilaktyce – poprzez połączenie z biomateriałami lub jako suplementy płynów do soczewek.

Przedłożona do recenzji rozprawa mgr Magdaleny Maciejewskiej obejmuje 159 stron, składa się z 9 części: części teoretycznej, podzielonej na cztery rozdziały, celu pracy, części doświadczalnej podzielonej na 9 rozdziałów, omówienie wyników i dyskusja, podsumowanie i wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim, literatury i suplementu. W części teoretycznej Autorka omówiła budowę i funkcje oka, scharakteryzowała soczewki kontaktowe, choroby oka związane ze stosowaniem soczewek kontaktowych oraz profilaktykę i leczenie zakażeń narządu wzroku. Następne podrozdziały części teoretycznej są poświęcone charakterystyce peptydów przeciwdrobnoustrojowych z uwzględnieniem mechanizmów ich działania, pochodzenia oraz przeglądowni aktywności w stosunku do biofilmu. W kolejnej części znalazł się rozdział poświęcony materiałom i metodom, w którym Doktorantka szczegółowo opisuje metody i aparaturę wykorzystane w doświadczeniach, jak również charakteryzuje wykorzystane szczepy bakteryjne i materiały. Następnie Autorka prezentuje uzyskane wyniki i omawia je na tle światowego piśmiennictwa związanego z tematem pracy. W kolejnym rozdziale zawarte są wnioski i podsumowanie pracy. Literatura obejmuje 368 pozycji, w ogromnej większości obcojęzycznych. W suplementie zawarto spis rycin, tabel oraz dodatkowe ryciny.

Przedmiotem zaprezentowanych przez Doktorantkę badań było 9 zsyntetyzowanych związków peptydowych – C<sub>12</sub>-KKC-NH<sub>2</sub>, C<sub>12</sub>-KR-NH<sub>2</sub>, C<sub>14</sub>-KKC-NH<sub>2</sub>, C<sub>14</sub>-KR-NH<sub>2</sub>, C<sub>16</sub>-KGK-NH<sub>2</sub>, C<sub>14</sub>-KKC-NH<sub>2</sub>, C<sub>14</sub>-KKK-NH<sub>2</sub>, C<sub>16</sub>-KR-NH<sub>2</sub>, (C<sub>10</sub>)<sub>2</sub>-KKK-NH<sub>2</sub> oraz temporyna A i citropina 1.1 – występujące w organizmach płazów. W pracy oceniono aktywność tych związków wobec referencyjnych szczepów drobnoustrojów należących do gatunków wywołujących zakażenia narządu wzroku – *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Proteus*



*mirabilis*. W badaniach oceniono również wrażliwość na dwa leki przeciwdrobnoustrojowe – ciprofloksacynę i chloramfenikol. W ocenie wrażliwości drobnoustrojów na w/w substancje wykorzystano metodę mikrorozcieńczeń w bulionie, która uznawana jest za metodę referencyjną i pozwala na wyznaczenie wartości MIC ocenianych związków wobec badanych drobnoustrojów. Dodatkowo, oznaczono również minimalne stężenia eradykujące i hamujące biofilm. Aktywność przeciwbiofilmową oznaczono zarówno w płytkach polistyrenowych, jak i z wykorzystaniem soczewek kontaktowych. Przy pomocy testu MTT oceniono toksyczność badanych związków w stosunku do linii komórkowej HaCaT. Na podstawie powyższych badań wyłoniono związek o największym potencjale i najmniejszej toksyczności -  $(C_{10})_2$ -KKK-NH<sub>2</sub>.

W przeprowadzonych badaniach Doktorantka wykazała aktywność związków peptydowych wobec badanych szczepów drobnoustrojów. Użyte w pracy leki przeciwdrobnoustrojowe wykazywały większą aktywność wobec hodowli planktonicznych, natomiast związki peptydowe były bardziej aktywne wobec wytworzonego biofilmu. Wykazano również, że dodanie związków peptydowych do podłoża hodowlanego skutkowało zmniejszeniem tworzenia biofilmu przez ziarenkowce Gram-dodatnie objęte badaniami, zarówno na powierzchni polistyrenu, jak i soczewek kontaktowych. Spośród wszystkich badanych związków peptydowych, jedynie  $(C_{10})_2$ -KKK-NH<sub>2</sub> nie wykazywał toksyczności przy stężeniach aktywnych mikrobiologicznie.

W ramach oceny przydatności zsyntetyzowanego związku do profilaktyki lub leczenia zakażeń narządu wzroku związanych ze stosowaniem soczewek kontaktowych, Doktorantka oceniła wpływ związku na aktywność metaboliczną biofilmu oraz skuteczność wybranych płynów do soczewek kontaktowych z dodatkiem badanego peptydu. Przeprowadzono również ocenę potencjału drażniącego przy pomocy dostępnej aplikacji komputerowej. Wykazano, że otrzymany związek ma silniejsze właściwości przeciwbiofilmowe w porównaniu do leków przeciwdrobnoustrojowych użytych w pracy, a jego dodanie do użytych w pracy płynów do soczewek kontaktowych zwiększało ich aktywność, przy jednoczesnym braku działania drażniącego.

Końcowy efekt pracy jest, moim zdaniem, bardzo obiecujący, gdyż w dobie powszechnej lekooporności, każda nowa substancja, która spełnia potencjalne wymogi minimalne – tj. aktywność przeciwdrobnoustrojową i brak potencjału drażniącego zasługuje na uwagę, gdyż zasób środków, które można bezpiecznie wykorzystać w profilaktyce i leczeniu zakażeń jest coraz bardziej ograniczony.

Praca przygotowana jest bardzo starannie, jednak pomimo tego, Autorce nie udało się uniknąć pewnych błędów językowych i interpunkcyjnych, niektóre z nich, z obowiązku recenzenta pozwalam sobie wymienić:

- s. 31 – odporności zamiast oporności
- s. 88 – śmiertelnej niedokrwistości plastycznej zamiast niedokrwistości aplastycznej
- s. 91 – czynniki etiologicznymi zamiast czynniki etiologiczne
- s. 112 – przeciwwgrzybiczej zamiast przeciwwgrzybiczej
- s. 124 – odpornością zamiast opornością

W pracy pojawił się również drobny błąd merytoryczny. Nie jest obserwowany wzrost oporności *Enterococcus faecalis* na klindamycynę, cefalosporyny i aminoglikozydy, jak pisze Autorka na stronie 92, gdyż na dwa pierwsze antybiotyki szczepy tego rodzaju są naturalnie odporne, podobnie jak na niskie stężenia aminoglikozydów, które stosuje się w leczeniu zakażeń enterokokowych wyłącznie w połączeniu z lekami uszkadzającymi ścianę komórkową.

Moim zdaniem warto byłoby rozszerzyć część badawczą o ocenę wrażliwości na zsyntetyzowane związki szczepów wielolekoopornych oraz izolowanych z próbek materiału klinicznego pochodzących od pacjentów z zakażeniami narządu wzroku związanymi ze stosowaniem soczewek kontaktowych. Niemniej jednak te badania mogą być kontynuacją recenzowanej rozprawy.

Reasumując, pomimo drobnych niedociągnięć, przedstawiona do recenzji praca ma bardzo wysoką wartość merytoryczną i poznawczą. Doktorantka włożyła bardzo dużo pracy w zaprojektowanie doświadczeń i ich przeprowadzenie. Postawione cele zostały w pełni osiągnięte, wnioski są przejrzyste, a wyniki pracy zostały zaprezentowane na tle obszernego piśmiennictwa. Dowodzi to dojrzałości naukowej Autorki.

Biorąc pod uwagę całość przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej stwierdzam, iż spełnia ona warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. RP nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami, w tym z Ustawą z dnia 28 kwietnia 2017 r. – O zmianie ustawy o stopniach i tytułach naukowych oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. RP poz. 859 z 2017 r.), dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego o dopuszczenie mgr Magdaleny Maciejewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

  
**p.o. KIEROWNIKA**  
Katedry Propedeutyki Medycyny  
i Profilaktyki Zakażeń  
*dr hab. n. med. Aleksander Deptuła, prof. UMK*