

Wrocław, 13 marca 2026 r.

dr hab. Anna Kędziora
anna.kedziora@uwr.edu.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Karoliny Lach**

**„Badanie właściwości przeciwbakteryjnych nanocząstek dendrytycznych
wzmacniających działanie endolizyn fagowych przeciwko bakteriom gram-ujemnym –
ocena aktywności przeciwbakteryjnej i działania cytotoksycznego w badaniach *in vitro*“**

Przedłożona do recenzji praca doktorska zatytułowana „Badanie właściwości przeciwbakteryjnych nanocząstek dendrytycznych wzmacniających działanie endolizyn fagowych przeciwko bakteriom gramujemnym – ocena aktywności przeciwbakteryjnej i działania cytotoksycznego w badaniach *in vitro*“ wykonana została przez mgr Karolinę Lach w ramach kształcenia w Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach Sekcji Nauki Ścisłe i Przyrodnicze w dyscyplinie nauki biologiczne pod kierunkiem dr hab. Karola Cieplucha, prof. Urad (promotora głównego) oraz dr Małgorzaty Łysek-Gładysińskiej (promotora pomocniczego). Badania zrealizowane zostały w ramach projektu finansowanego przez NCN Sonata17, 2021/43/D/NZ6/00560 „Nanocząstki dendrytyczne jako czynnik wzmacniający właściwości przeciwbakteryjne endolizyn pochodzenia fagowego przeciwko bakteriom Gram-ujemnym. Ocena właściwości przeciwbakteryjnych“ którego kierownikiem był dr hab. Karol Ciepluch, prof. Urad.

Rozprawa doktorska ma układ typowy dla prac eksperymentalnych. Rozpoczyna się wprowadzeniem do części teoretycznej, wyodrębniony został cel, opisane zostały materiały i metody oraz wyniki, a całość zamyka dyskusja wraz z wnioskami. Ponadto doktorantka uwzględniła wykaz skrótów, oznaczeń, rycin, tabel, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz bibliografię.

W części wprowadzającej Doktorantka poświęciła uwagę budowie ściany komórkowej oraz błony zewnętrznej bakterii, dokonała opisu gatunku bakterii *Pseudomonas aeruginosa* i bakteryjnych czynników wirulencji, scharakteryzowała budowę tkanek skóry, a także opisała

**WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH****ZAKŁAD MIKROBIOLOGII**

ul. S. Przybyszewskiego 63
51-148 Wrocław
tel. +48 71 375 63 23
zmik@uwr.edu.pl | www.uni.wroc.pl

alternatywne rozwiązania przeciwbakteryjne, w tym badane dendrymery i endolizynę fagową. Ta część pracy opracowana jest dosyć ogólnie, dostarcza podstawowych, lecz w mojej opinii niewyczerpujących informacji. Uważam, że należałoby pewne dane doprecyzować np. czy omawiane czynniki wirulencji związane są konkretnie z opisywanym patogenem (*Pseudomonas aeruginosa*), jakie są własności fizykochemiczne dendrymerów, czy ich odpowiedniki znajdują już zastosowanie komercyjne, jaki jest powód wyboru jonów srebra jako komponentu badanych dendrymerów, tym bardziej, że rola srebra w antybakteryjnej aktywności badanych kompleksów dosyć mocno podkreślona została w dyskusji. Brakuje mi także szczegółowej analizy budowy peptydoglikanu badanego gatunku *Pseudomonas aeruginosa*, z uwagi na to, że był to jeden z kluczowych elementów strukturalnych komórki bakteryjnej analizowany po działaniu enzymów degradujących ścianę komórkową oraz kompleksów dendrymer-endolizyna.

Doktorantka, mgr Karolina Lach, zastosowała adekwatne metody badawcze, które pozwoliły na realizację założonych celów badawczych. Część eksperymentalna bogata jest w szeroki wachlarz narzędzi i metod, tworząc logicznie poprowadzoną całość. Doktorantka może pochwalić się znajomością wielu metod eksperymentalnych, w tym biologicznych oraz fizykochemicznych. Materiały i metody zostały opisane wyczerpująco. Nieco bardziej przejrzyste byłoby jednak, gdyby forma tytułów poszczególnych podrozdziałów w części „Materiały i metody“ była ujednolicona. Aktualnie pewne tytuły podrozdziałów wskazują na cel badania (np. podrozdział 3.2.1-3.2.12), inne skupiają się na nazwie metody lub zestawie odczynników (np. podrozdział 3.2.13), co wprowadza pewien chaos i niekonsekwencje.

Dalsza część rozprawy poświęcona została wynikom. Część z nich została już opublikowana w 2 wysokopunktowanych czasopismach, w tym w 1 artykule doktorantka jest pierwszym autorem. Wyniki badań opisane przez Doktorantkę w recenzowanej rozprawie doktorskiej pogrupowane zostały zgodnie z celami niniejszej rozprawy na części dotyczące analizy interakcji pomiędzy dendrymerami a endolizyną, oceny właściwości antybakteryjnych (w tym skuteczność do hamowania i eradykacji biofilmu *in vivo* i *ex vivo*) oraz oceny cytotoksyczności dendrymerów i ich kompleksów z endolizyną wobec ludzkich fibroblastów. W mojej ocenie wyniki poszczególnych eksperymentów zostały przez Doktorantkę przeanalizowane poprawnie, jednak w odniesieniu do całości obrazu, jaki wyłania się ze



wszystkich przeprowadzonych badań, mam wrażenie, że pewne wnioski wyciągnięte zostały zbyt ogólnie. Uważam także, że zasadnym byłoby wskazanie przy wynikach prac (artykułów), w których zostały one już opublikowane. Do tej części pracy kieruję do Doktorantki kilka pytań z prośbą o wyjaśnienie i dyskusję:

1. Czy zaobserwowane różnice w aktywności antybakteryjnej pomiędzy dendrymerami, endolizyną oraz ich kompleksami z endolizyną są istotne statystycznie?
2. Na jakiej podstawie Doktoranta wnioskuje w dyskusji (str. 72), że dochodzi do degradacji peptydoglikanu, skoro wyniki prezentowane na Rycinie 13 (str. 45) wskazują, że aktywność degradacyjna peptydoglikanu przez samą endolizynę oraz kompleksy endolizyny z dendrymerami nie została zmniejszona, a nawet obserwuje się wzrost degradacji PG?
3. Dlaczego wyizolowano peptydoglikan z bakterii *Escherichia coli*, nie zaś modelowego szczepu, jakim był *Pseudomonas aeruginosa* PAO1?
4. Dlaczego w doświadczeniach dotyczących oznaczania zdolności dendrymerów do permeabilizacji błony zewnętrznej nie użyto także kompleksów dendrymerów z endolizyną a wyłącznie same dendrymery (Rycina 12), podczas gdy obserwacje degradacji peptydoglikanu (Rycina 13, Rycina 19), obserwację morfologii komórek hamowanie tworzenia biofilmu, jak i pozostałe eksperymenty przeprowadzono na kompleksach dendrymer-endolizyna?
5. Doktorantka wnioskuje, że w teście HADA endolizyna w obecności dendrymerów degraduje peptydoglikan (Rycina 19, str. 53 oraz str. 73), podczas gdy eksperyment dotyczący oceny zdolności endolizyny do degradacji peptydoglikanu (Rycina 13, str. 45) nie potwierdza takiego wniosku. Z czego mogą wynikać różnice w tych wynikach?

Pod kątem językowym recenzowana rozprawa doktorska napisana jest poprawnie. Pojawiają się drobne błędy redakcyjne (błędy interpunkcyjne, leksykalne i stylistyczne), które nie wpływają na ogólną ocenę pracy oraz jej wartość merytoryczną. Sugerowałabym jednak rozważenie zastąpienia w opracowaniu naukowym terminu „mikroflora” (str. 22) określeniami

**WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH****ZAKŁAD MIKROBIOLOGII**

ul. S. Przybyszewskiego 63
51-148 Wrocław
tel. +48 71 375 63 23
zmik@uwr.edu.pl | www.uni.wroc.pl

„mikrobiota” lub „mikrobiom”, które są obecnie powszechniej stosowane w literaturze naukowej i uznawane za bardziej precyzyjne. Ponadto użyto w pracy nazwy gatunkowej *Propionibacterium acnes*, która w świetle obowiązującej klasyfikacji taksonomicznej została zastąpiona przez nazwę *Cutibacterium acnes*. W niektórych opisach wyników (str. 52 i 53) nie zgadzają się informacje dotyczące użytego stężenia endolizyny w stosunku do wiadomości podanych w metodach (str. 37, 38). Dostrzegam także brak odnośników w tekście do poszczególnych tabel i rycin oraz opisu legend rycin, np. pod kątem informacji co stanowiło kontrole poszczególnych eksperymentów.

Na uwagę zasługuje duże zaangażowanie doktorantki w aktywność naukową. Dyplomantka jest autorką łącznie 6 wysokopunktowanych publikacji, 5 komunikatów naukowych prezentowanych na konferencjach krajowych lub międzynarodowych. Za wystąpienia ustne podczas PhD Students Forum została dwukrotnie nagrodzona nagrodą Prodomus (2023 i 2024 r). Otrzymała dwa miesięczne staże naukowe w Polsce oraz w Hiszpanii. Ponadto dwukrotnie była kierownikiem projektu realizowanego w ramach funduszy wewnętrznych Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, finansującego aktywny udział w konferencjach, co świadczy o chęci ubiegania się o finansowanie. Podkreślić należy także, że poza tematyką związaną bezpośrednio z realizacją doktoratu, była członkiem zespołu badawczego projektu realizowanego w ramach funduszy wewnętrznych Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, dotyczącego zmian biochemicznych i morfologicznych w wątrobie kurcząt żywionych różnymi formami i poziomami seleniu. Dowodzi to dużej determinacji naukowej Doktorantki, dobrej organizacji czasu pracy i chęci rozwoju. Zauważyć należy także, że Pani Karolina Lach rozwijała swoje kompetencje poprzez udział w warsztatach i szkoleniach. Po dokładnym zapoznaniu się z informacjami zawartymi w rozprawie doktorskiej, odnoszę wrażenie, że Pani mgr Karolina Lach, jest osobą aktywną, energiczną, chętną do działań organizacyjnych oraz dzielenia się wiedzą m.in. poprzez udział w licznych akcjach popularyzujących naukę.

Podsumowując, chciałabym podkreślić, że doktorantka podjęła się rozwiązania aktualnego i istotnego problemu badawczego. Badania przeprowadzone przez mgr Karolinę Lach przyczyniły się do wzrostu wiedzy na temat biologicznych właściwości kompleksów modyfikowanych dedrymerów z endolizyną CHAP. Recenzowana rozprawa doktorska jest

**WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH****ZAKŁAD MIKROBIOLOGII**

ul. S. Przybyszewskiego 63
51-148 Wrocław
tel. +48 71 375 63 23
zmik@uwr.edu.pl | www.uni.wroc.pl

wartościowym naukowym opracowaniem.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr Karoliny Lach pt. „Badanie właściwości przeciwbakteryjnych nanocząstek dendrytycznych wzmacniających działanie endolizyn fagowych przeciwko bakteriom gram-ujemnym – ocena aktywności przeciwbakteryjnej i działania cytotoksycznego w badaniach *in vitro*” spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne tj. warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (D. U. z 2024. poz. 1571 z późn. zmianami) tj. prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w dyscyplinie oraz umiejętności prowadzenia pracy naukowej, a przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Zwracam się więc do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Biologii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach z uprzejmą prośbą o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

dr hab. Anna Kędziora