



Katowice, 13.07.2023 r.

Dr hab. n. med. i n. o zdr. Benjamin Oskar Grabarek, prof. AŚ

Katedra i Zakład Histologii, Cytofizjologii i Embriologii

Wydział Nauk Medycznych im. Prof. Zbigniewa Religi

Akademia Śląska

RECENZJA
rozprawy doktorskiej

pt. „Badanie *in vitro* potencjału hemolitycznego bakteryjnej nanocelulozy”

wykonanej przez Mgr Grzegorza Jabłońskiego

pod kierunkiem

promotora: prof. dr hab. Arura H. Świergiela

drugiego promotora: dr hab. n. med. Piotra Siondalskiego

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska liczy 170 stron i można w niej wyróżnić następujące składowe: streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, materiały i metody, wyniki, dyskusję wraz z jej podsumowaniem, wnioski i spis piśmiennictwa.

Temat podjęty przez Doktoranta jest niezwykle istotny, gdyż celuloza produkowana przez bakterię *Gluconacetobacter xylinus* szczep E25 może być wykorzystana do produkcji implantów naczyniowych i kardiochirurgicznych. Badania opisane przez mgr Grzegorza Jabłońskiego stanowiły część dużego projektu, pt. „Przedkliniczne badania możliwości zastosowania oryginalnej, polskiej bionanocelulozy (BNC) w medycynie regeneracyjnej w aspekcie bioimplantów w kardiochirurgii i chirurgii naczyniowej”, którego celem było

otrzymanie bezpiecznej i sprawnie działającej protezy sercowo-naczyniowej wykonanej z bakteryjnej celulozy.

To właśnie aplikacyjny charakter badań przeprowadzonych przez Doktoranta jest mocną stroną rozprawy doktorskiej; interesującym i trafnym wyborem z poznawczego oraz praktycznego punktu widzenia, świadczącym o nowatorskim aspekcie analiz wykonanych przez mgr Grzegorza Jabłońskiego.

Doktorant we wstępie liczącym 67 stron w sposób bardzo szczegółowy zaznajamia czytelnika z teoretycznym aspektem badań przedstawionych w dalszej części rozprawy doktorskiej. Tekst tego rozdziału został uzupełniony rycinami i tabelami. Niemniej jednak uważam, iż informacje zawarte w tej części rozprawy doktorskiej mogłyby zostać skondensowane i ukierunkowane na najbardziej istotne aspekty poruszane w rozprawie doktorskiej. Pragnę również zauważyć, iż dla relatywnie dużej liczby fragmentów tekstu nie wskazano referencji, na podstawie których zamieszczono dane informacje. Poza tym, w przypadku rycin, które są istotnym elementem wstępu, Doktorant wydaje się nie być ich autorem, jak także nie wskazał On czy uzyskał zgodę autorów publikacji, z których pochodzą ryciny na ich wykorzystanie we własnej rozprawie doktorskiej. Uważam także, że tekst zamieszczony na wszystkich rycinach powinien być napisany w języku polskim, a same ryciny powinny być samoobjaśniające. Również tabele zamieszczone we wstępie zostały przygotowane w sposób niestaranny, gdyż pierwszą tabelą jest tabela nr 2 (strona 43), tekst w nich zamieszczony został napisany inną czcionką, co rozprasza czytelnika; w przypadku tabeli 3. Doktorant przekleił tabelę z pracy Bielecki i wsp (2005) do swojej dysertacji, a tabela 4 zawiera pusty wiersz na stronie 66 rozprawy.

Kolejną częścią rozprawy doktorskiej są „Cele doświadczalne i hipoteza badawcza”.

W ramach realizacji celu głównego pracy Doktorant sformułował następujące cele szczegółowe:

1. Zbadanie wpływu pracy obu instalacji pomiarowych na stężenie wolnej hemoglobiny w inkubowanej krwi, a także na inne parametry, takie jak: stężenie hemoglobiny całkowitej, hematokryt, czas krzepnięcia.
2. Badanie wpływu obecności skrawka bakteryjnej celulozy na zmiany parametrów krwi zachodzące podczas inkubacji.

3. Ocena bezpieczeństwa zastosowania bakteryjnej celulozy jako implantu pod kątem wywoływania hemolizy.
4. Celem dodatkowym było porównanie efektywności inkubacji w systemie z wykorzystaniem pompy LVAD i pętli Chandlera pod względem oceny potencjału hemolitycznego.

Następny rozdział rozprawy doktorskiej mgr Grzegorza Jabłońskiego to „Materiały i metody”, w którym w sposób szczegółowy, pozwalający na odwzorowanie doświadczenia opisano model badawczy i analizy, jakie przeprowadzono. Analiza statystyczna została wykonana poprawnie, z zastosowaniem adekwatnych testów, przyjmując próg istotności statystycznej ($p < 0,05$, aczkolwiek uważam, że powinna ona być ostatnim podrozdziałem części „Materiał i metody”. Należy podać także nazwę i wersję wykorzystanego programu statystycznego.

W rozdziale 10. Doktorant opisuje uzyskane wyniki, uzupełniając tekst pracy o tabele. Istotne jest to, że informacje zawarte w tabelach nie są powielane w tekście głównym, jak także, że są one samoobjaśniające, chociaż ponownie użyto innej czcionki. Ryciny przedstawione w tej części pracy zostały wykonane samodzielnie przez Doktoranta z wykorzystaniem programu MS Excel.

Dyskusja jest mocną stroną rozprawy doktorskiej, gdyż Doktorant w sposób trafny, umiejętny, świadczący o dobrej znajomości tematyki zawartej w pracy omawia uzyskane wyniki polemizując z obserwacjami dokonanyymi przez innych badaczy. Niemniej jednak, ponownie nie wszystkie informacje zawarte w dyskusji zostały poparte referencjami. Uważam także, że rycina 51 powinna być częścią „Wyników”, a nie „Dyskusji”. Także, moim zdaniem zasadne byłoby posługiwanie się słowem „piśmiennictwo”, zamiast „literatura”. Cennym uzupełnieniem „Dyskusji” byłoby wskazanie słabych i mocnych stron przeprowadzonego badania.

Całość rozprawy doktorskiej zamyka sześć wniosków, które korespondują z zamierzonym celem pracy i wyznaczonymi przez Doktoranta zadaniami badawczymi.

Ostatnim rozdziałem rozprawy doktorskiej jest wykaz piśmiennictwa wykorzystanego w dysertacji. Niestety większość pozycji piśmiennictwa jest starszych niż ostatnie 5 lat poprzedzające rok złożenia rozprawy doktorskiej; jest ich tylko 12 w całej pracy.

Cennym uzupełnieniem rozprawy doktorskiej byłoby zamieszczenie także spisu tabel i rycin. W całej pracy pojawiły się także drobne błędy językowe, które jednak w żaden sposób nie umniejszają wartości rozprawy doktorskiej.

Uwzględniając aktualność podjętej tematyki badawczej, nowatorski aspekt badań oraz praktyczny, kliniczny wymiar przeprowadzonych obserwacji uważam, że rozprawa doktorska mgr Grzegorza Jabłońskiego zasługuje na wyróżnienie. Niniejszy wniosek motywuję tym, że:

1. Badania opisane w rozprawie doktorskiej są częścią dużego projektu sfinansowanego ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, pt. „Przedkliniczne badania możliwości zastosowania oryginalnej, polskiej bionanocelulozy (BNC) w medycynie regeneracyjnej w aspekcie bioimplantów w kardiochirurgii i chirurgii naczyniowej”, którego celem jest umocnienie pozycji Polski na międzynarodowym rynku dostawców biomateriałów medycznych.
2. Przeznaczeniem materiału produkowanego na potrzeby polskiej firmy Bowil Biotech Sp. z o. o. jest implantacja w miejscach narażonych na wysokie ciśnienia oraz prędkości przepływu krwi, np. implanty zastawek serca czy naczyń krwionośnych, Doktorant wykorzystał dwie metody dynamicznej inkubacji. Obie procedury (oparta na pompie LVAD oraz na pętli Chandlera) stanowią nowatorskie podejście do kwestii badań nad hemolitycznością materiałów. Wykorzystane w pracy dwie metody badania potencjału hemolitycznego oparte były na inkubacji dynamicznej materiału z krwią świńską. W przypadku pierwszej metody przy wykorzystaniu pompy LVAD skonstruowano instalację imitującą układ krążenia dużego ssaka. Takie podejście pozwoliło na analizę interakcji pomiędzy powierzchnią implantu, a krążącym medium w okolicznościach zbliżonych do panujących w układzie krążenia człowieka. Jako, że materiał ma być w przyszłości stosowany jako implant naczynia, łąty naczyniowej czy zastawki serca, przez co będzie narażony na wysokie ciśnienia i siły ścinające, zastosowanie metodologii *in vitro* opartej na inkubacji dynamicznej miało większą zasadność niż użycie metod stacjonarnych. Drugą metodą wykorzystaną w niniejszej dysertacji był eksperyment oparty na

wykorzystaniu pętli Chandlera. Układ wykorzystany w pracy pozwalał na prowadzenie ośmiu prób jednocześnie. Jedna seria pomiarowa obejmowała 4 próby kontrolne i 4 eksperymentalne. We wszystkich ośmiu pętlach krążyła krew z tego samego źródła, z tą samą prędkością i w tej samej temperaturze. Tak jednorodne warunki umożliwiają wnioskowanie na podstawie samych zmian stężenia wolnej hemoglobiny (fHb) bez konieczności przeliczania jej na inne wskaźniki.

3. Bakteryjna celuloza nadal stanowi materiał nowatorski. Choć od momentu odkrycia znalazła się w gronie zainteresowań kilku niezależnych grup badawczych, to doniesień na temat jej właściwości biologicznych jest wciąż stosunkowo niewiele. Badaniem tego polimeru zajmują się m. in. ośrodki w Portugalii, Brazylii, Malezji, Szwecji, Japonii, Chin oraz Polsce.
4. Cenną wartość dodaną stanowi natomiast analiza obecnego stanu badań hematologicznych *in vitro* oraz przedstawienie przykładów nowatorskiego podejścia do tej tematyki. Dotychczas potencjał hemolityczny rozmaitych materiałów był badany głównie przy pomocy metod statycznych *in vitro* oraz doświadczeń z wykorzystaniem żywych zwierząt laboratoryjnych.
5. Badania przeprowadzone w niniejszej dysertacji przyniosły zadowalające rezultaty w kontekście oceny przydatności oraz bezpieczeństwa stosowania bakteryjnej celulozy produkowanej przez *Gluconacetobacter xylinus* szczep E25.
6. Jest to też pierwsze badanie, w którym wykorzystano celulozę bakteryjną produkowaną przez *Gluconacetobacter xylinus* szczep E25.

Podsumowując, pomimo uwag krytycznych, które dotyczą edytorskiej strony rozprawy doktorskiej, tematyka badawcza, przeprowadzone doświadczenia, analizy oraz trafność w interpretacji otrzymanych wyników w pełni potwierdza spełnienie wymagań stawianych rozprawą doktorskim określonych w art. 113 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.) w zw. z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1669 z późn. Zm.)

Zatem, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Grzegorza Jabłońskiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego i wyróżnienie rozprawy doktorskiej.


Z-ca Przewodniczącego Rady Naukowej WNM
Przewodniczący Komisji ds. Etyki Badań Naukowych
Z-ca Kierownika Katedry i Zakładu
Historii, Cyfryzacji i Embriologii
AKADEMIA ŚLĄSKA, ul. Rolna 43, 40-555 Katowice, NIP 6342513160
as@akademiaslaska.pl | www.akademiaslaska.pl | (32) 60-72-400
Benjamin Oskar Grabarek, Prof. AS



Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej

pt. „Badanie *in vitro* potencjału hemolitycznego bakteryjnej nanocelulozy”

wykonanej przez Mgr Grzegorza Jabłońskiego

pod kierunkiem

promotora: prof. dr hab. Arura H. Świergiela

drugiego promotora: dr hab. n. med. Piotra Siondalskiego

Uwzględniając aktualność podjętej tematyki badawczej, nowatorski aspekt badań oraz praktyczny, kliniczny wymiar przeprowadzonych obserwacji uważam, że rozprawa doktorska mgr Grzegorza Jabłońskiego zasługuje na wyróżnienie. Niniejszy wniosek motywuję tym, że:

7. Badania opisane w rozprawie doktorskiej są częścią dużego projektu sfinansowanego ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, pt. „Przedkliniczne badania możliwości zastosowania oryginalnej, polskiej bionanocelulozy (BNC) w medycynie regeneracyjnej w aspekcie bioimplantów w kardiologii i chirurgii naczyniowej”, którego celem jest umocnienie pozycji Polski na międzynarodowym rynku dostawców biomateriałów medycznych.
8. Przeznaczeniem materiału produkowanego na potrzeby polskiej firmy Bowil Biotech Sp. z o. o. jest implantacja w miejscach narażonych na wysokie ciśnienia oraz prędkości przepływu krwi, np. implanty zastawek serca czy naczyń krwionośnych, Doktorant wykorzystał dwie metody dynamicznej inkubacji. Obie procedury (oparta na pompie LVAD oraz na pętli Chandlera) stanowią nowatorskie podejście do kwestii badań nad hemolitycznością materiałów. Wykorzystane w pracy dwie metody badania potencjału hemolitycznego oparte były na inkubacji dynamicznej materiału z krwią świńską. W przypadku pierwszej metody przy wykorzystaniu pompy LVAD skonstruowano instalację imitującą układ krążenia dużego ssaka. Takie podejście pozwoliło na analizę interakcji pomiędzy powierzchnią implantu, a krążącym medium w okolicznościach zbliżonych do panujących w układzie krążenia człowieka. Jako, że materiał ma być w przyszłości stosowany jako implant naczynia, łaty naczyniowej czy zastawki serca, przez

co będzie narażony na wysokie ciśnienia i siły ścinające, zastosowanie metodologii *in vitro* opartej na inkubacji dynamicznej miało większą zasadność niż użycie metod stacjonarnych. Drugą metodą wykorzystaną w niniejszej dysertacji był eksperyment oparty na wykorzystaniu pętli Chandlera. Układ wykorzystany w pracy pozwalał na prowadzenie ośmiu prób jednocześnie. Jedna seria pomiarowa obejmowała 4 próby kontrolne i 4 eksperymentalne. We wszystkich ośmiu pętlach krążyła krew z tego samego źródła, z tą samą prędkością i w tej samej temperaturze. Tak jednorodne warunki umożliwiają wnioskowanie na podstawie samych zmian stężenia wolnej hemoglobiny (fHb) bez konieczności przeliczania jej na inne wskaźniki.

9. Bakteryjna celuloza nadal stanowi materiał nowatorski. Choć od momentu odkrycia znalazła się w gronie zainteresowań kilku niezależnych grup badawczych, to doniesień na temat jej właściwości biologicznych jest wciąż stosunkowo niewiele. Badaniem tego polimeru zajmują się m. in. ośrodki w Portugalii, Brazylii, Malezji, Szwecji, Japonii, Chin oraz Polsce.
10. Cenną wartość dodaną stanowi natomiast analiza obecnego stanu badań hematologicznych *in vitro* oraz przedstawienie przykładów nowatorskiego podejścia do tej tematyki. Dotychczas potencjał hemolityczny rozmaitych materiałów był badany głównie przy pomocy metod statycznych *in vitro* oraz doświadczeń z wykorzystaniem żywych zwierząt laboratoryjnych.
11. Badania przeprowadzone w niniejszej dysertacji przyniosły zadowalające rezultaty w kontekście oceny przydatności oraz bezpieczeństwa stosowania bakteryjnej celulozy produkowanej przez *Gluconacetobacter xylinus* szczep E25.
12. Jest to też pierwsze badanie, w którym wykorzystano celulozę bakteryjną produkowaną przez *Gluconacetobacter xylinus* szczep E25.

Zatem, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie mgr Grzegorza Jabłońskiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego i wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Z-ca Przewodniczącego Rady Naukowej WNM
Przewodniczący Komisji ds. Etyki i Badaw Naukowych
Z-ca Kierownika Katedry i Zakładu
Mikrobiologii, Cytofizjologii i Embriologii
dr hab. n. med. i n. o. zdr.
Beniamin Oskar Grabanek, Prof. AS