



AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej

KATEDRA METALOZNAWSTWA I METALURGII PROSZKÓW
Centrum Mikroskopii Elektronowej dla Inżynierii Materiałowej

dr hab. inż. Urszula Stachewicz, Prof. AGH

Tel. +48 12 617 52 30;

e-mail: ustachew@agh.edu.pl

website: <http://biocom4saven.agh.edu.pl/>

Kraków, 6 września 2022 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Dominiki Czerwińskiej-Główkiej,
pt.: „Elektroaktywne powierzchnie polimerowe do sterowania wzrostem biofilmu
bakteryjnego i komórkowego”,
wykonanej na Politechnice Śląskiej w Gliwicach, Wydziale Chemicznym,
pod kierunkiem dr hab. inż. Katarzyny Krukiewicz, prof. Politechniki Śląskiej.

1. Charakterystyka pracy doktorskiej

Praca doktorska Pani mgr Dominiki Czerwińskiej-Główkiej, zawiera wyniki badań związane z otrzymywaniem i charakteryzacją właściwości fizykochemicznych, antybakteryjnych i neuroprotektoryjnych materiałów na bazie polimerów przewodzących. Główny cel pracy to opracowanie innowacyjnych materiałów dla zastosowań biomedycznych, opartych na wybranych polimerach przewodzących: poli(3,4-etylenodioksytiofen) PEDOT oraz poli(3,4-etylenodioksypiról) PEDOP, będących nośnikami antybiotyku, tetracykliny (Tc). W ten sposób zaplanowano kontrolę nad procesem powstawania biofilmu bakteryjnego oraz stymulację komórek nerwowych. Tematyka pracy jest niezwykle ciekawa i aktualna oraz co najważniejsze ważna z praktycznego punktu wykorzystania wyników. Przedstawiona praca i badania wpisują się

w trendy naukowe związane z rozwojem inżynierii materiałowej i chemicznej w obszarze zastosowań biomedycznych.

Rozprawę doktorską stanowi cykl pięciu publikacji w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Są to publikacje m.in. w *Bioelectrochemistry*, *Materials Science and Engineering: C, Materials i Cells*. Wszystkie publikacje były recenzowane przez kilku niezależnych ekspertów, co dodatkowo podkreśla wysoki poziom merytoryczny prezentowanych badań. Publikacje mają charakter interdyscyplinarny, a niektóre prace opublikowane w ciągu ostatnich 3 lat były już cytowane ponad 10 razy wg bazy Scopus. Jeśli chodzi o udział to wkład Doktorantki był znaczący w każdej publikacji, opierał się w większości na przeprowadzeniu najważniejszych badań, analizie wyników i ich opracowaniu oraz zredagowaniu manuskryptu. Poza tym jest współautorem publikacji w *Electrochimica Acta*, *Polymers i Materials*. Rozprawa doktorska obejmuje 119 stron i składa się z 6 rozdziałów. Część eksperymentalna obejmuje elektrochemiczną syntezę polimerów przewodzących i ich modyfikacja poprzez zastosowanie tetracykliny, ocenę właściwości fizykochemicznych otrzymanych materiałów, badania biologiczne z wykorzystaniem bakterii i linii komórkowej oraz analizy statystyczne. W dyskusji zostały ujęte następujące tematy takie jak: określenie możliwości regulowania wzrostu biofilmu poprzez stymulację elektryczną oraz obecność materiałów elektroaktywnych, badanie podatności powierzchni platyny na rozwój biofilmu bakteryjnego, otrzymanie i charakterystyka matryc polimerowych i ocena ich właściwości antybakteryjnych i neuroprotektoryjnych oraz analiza morfometryczna komórek bakteryjnych i komórek nerwowych.

Poza tym Doktorantka umieściła osobno streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Na końcu pracy zawarte jest podsumowanie i dorobek naukowy Doktorantki. Praca w pierwszej części opisującej cykl publikacji, posiada 6 rysunków i 10 tabel, a bibliografia zawiera 97 pozycji, nie wliczając elementów zawartych w cyklu publikacyjnym.

Część literaturowa i wstęp zawiera wprowadzenie w tematykę badawczą, w tym informacje na temat wyzwań współczesnej biomedycyny, w tym walka z chorobami układu nerwowego i pomoc diagnostyczna, gdzie kluczową rolę odgrywają elektrody neurologiczne. Poruszony został też temat infekcji bakteryjnych i zakażeń okołowszczepowych, który wiąże się z rozwojem biofilmu. W dalszej części

zaprezentowane zostały polimery przewodzące: PPy, PEDOT i PEDOP użyte w badaniach Doktorantki. Autorka w jasny sposób przedstawia znaczenie swoich badań w kontekście obecnie stosowanych praktych lekarskich w walce z infekcjami bakteryjnymi. W mojej ocenie zakres przeglądu literatury został dobrany trafnie i rzetelnie przedstawiony, w związku z czym Doktorantka jasno sformułowała cele pracy i zaplanowała badania eksperymentalne. Szeroki i bardzo dobrze zestawiony opis literatury pozwolił Doktorance w dalszej części pracy przeprowadzić przejrzystą dyskusję otrzymanych wyników.

Część doświadczalna składa się z cyklu 5 publikacji:

1. Czerwińska-Główka D., Krukiewicz K., A journey in the complex interactions between electrochemistry and bacteriology: From electroactivity to electromodulation of bacterial biofilms, *Bioelectrochemistry* 131 (2020) 1-14
2. Czerwińska-Główka D., Przysaś W., Zabłocka-Godlewska E., Student S., Cwalina B., Łapkowski M., Krukiewicz K. Bacterial surface colonization of sputter-coated platinum films, *Materials* 13(12) (2020) 1-12
3. Czerwińska-Główka D., Przysaś W., Zabłocka-Godlewska E., Student S., Cwalina B., Łapkowski M., Krukiewicz K., Electrically-responsive antimicrobial coatings based on a tetracycline-loaded poly(3,4-ethylenedioxythiophene) matrix, *Materials Science and Engineering: C* 123 (2021) 1-11
4. Czerwińska-Główka D., Skonieczna M., Barylski A., Golba S., Przysaś W., Zabłocka-Godlewska E., Student S., Cwalina B., Krukiewicz K., Bifunctional conducting polymer matrices with antibacterial and neuroprotective effects, *Bioelectrochemistry* 144 (2021) 1-14
5. Czerwińska-Główka D., Krukiewicz K., Guidelines for a Morphometric Analysis of Prokaryotic and Eukaryotic Cells by Scanning Electron Microscopy, *Cells* 10(12), (2021) 1-17

Publikacja 1 stanowi przegląd literaturowy na temat regulowania wzrostu biofilmu poprzez stymulację elektryczną oraz obecność materiałów elektroaktywnych. Opisane zostały tu techniki elektrochemiczne w monitorowaniu i modulacji wzrostu biofilmu bakteryjnego, a

także wpływ elektrostymulacji na zachowanie bakterii. Doktorantka poruszyła temat roli prądów elektrycznych w funkcjonowaniu biofilmu bakteryjnego, gdzie bakterie w pełnią różne funkcje związane z komunikacją chemiczną i elektryczną.

W Publikacji 2, została określona podatności powierzchni Pt na rozwój biofilmu bakteryjnego. Pt charakteryzuje się wykazaną biokompatybilnością i przewodnością elektryczną i jest powszechnie stosowana w implantach neurologicznych czy rozrusznikach serca. Doktorantka przeprowadziła badania mikrobiologiczne i antybakteryjne na cienkich warstwach Pt naniesionej na szkiełka mikroskopowe stosując napyłarkę próżniową, wykazując zwiększoną żywotność bakterii na tych powłokach w odniesieniu do powierzchni kontrolnych. Wyniki tych badań stanowiły motywację do modyfikacji powierzchni na bazie Pt stosowanych powszechnie w biomedycynie, aby ograniczyć na nich kolonizację bakterii.

W Publikacji 3, powierzchnia Pt została pokryta powłokami na bazie polimerów przewodzących PEDOT i PEDOP, które zostały wykorzystane jako nośnik tetracykliny o działaniu bakteriobójczym. Doktorantka podjęła trudną i ciekawą tematykę ustalenia mechanizmu przewodzenia ładunku dla układów PEDOP i PEDOP/Tc. W przypadku stosowania powłok na neuroelektrody, niski opór przenoszenia ładunku wpływa na zwiększenie czułości urządzeń. Zweryfikowane zostały także siły adhezji pomiędzy polimerami a warstwa Pt pokazując możliwości zastawiania ich w procesie implantacji, gdzie typowe siły są rzędu mN. Dodatkowo Doktorantka zbadała zwilżalność i chropowatość wytworzonych warstw wraz z możliwością uwalniania leku w sposób spontaniczny i wymuszony poprzez stymulacje elektryczne. Tutaj matryca PEDOP/Tc okazała się pod tym względem bardziej skuteczna od matrycy PEDOT/Tc, dlatego dalsze badania na linii komórkowej B35 były prowadzone właśnie na niej, głównie w Publikacji 4. Doktorantka pokazała że powłoka PEDOP/Tc spełnia kryteria biouzgodności określone w normie ISO 10993 a żywotność komórek B35 na jej powierzchni była porównywalna z kontrolną warstwą Pt. To głównie dodatek Tc wpłynął na poprawę biokompatybilności polimeru przewodzącego.

W Publikacji 5 została przedstawiona analiza biologiczna z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) w celu zbadania morfologii komórek prokariotycznych i eukariotycznych na wytworzonych warstwach. Otrzymane wyniki umożliwiły ocenę przebiegu cyklu komórkowego, proliferację komórek, które potwierdziły użyteczności

stosowanego biomateriału. Doktorantka opracowała przy tym procedury przygotowania próbek i analizy obrazu.

2. Ocena pracy

Badania zostały przeprowadzone w sposób systematyczny i staranny. Zaletą pracy jest podjęcie bardzo ciekawej tematyki pracy, której celem było wytworzenie zbadanie użyteczności powłok na bazie PEDOT i PEDOP jako nośników antybiotyku Tc do zastosowań biomedycznych. Autorka w swojej pracy proponuje bardzo oryginalne i kompleksowe podejście do badań, które wraz z analizą wyników nie budzą wątpliwości i zostały wykonane poprawnie z naukowym podejściem do problemu. Metody badawcze zostały bardzo dobrze opisane w każdej publikacji. Poza tym szeroki warsztat badawczy i odpowiedni dobór technik świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Po przeczytaniu pracy nasuwa się jednak kilka uwag i punktów dyskusyjnych, przedstawionych poniżej w punktach:

1. Jeśli chodzi o skład chemiczny powierzchni zostały zastosowane metody FTIR a nie XPS, ciekawe byłoby porównanie wyników, które mogą pokazać różnice w strukturze powłok na różnych głębokościach pomiarów.
2. Ciekawym uzupełnieniem wykonanych badań byłoby zmierzenie potencjału zeta dla otrzymanych powłok i powiązanie wyników odnośnie ich własności na przykład antybakteryjnych.
3. Czy wilgotność była kontrolowana w czasie wytwarzania powłok w laboratorium? Czy badany był wpływ wilgotności na morfologię powłok?
4. W publikacji 3 chropowatość została wyrażona jako średnie arytmetyczne odchylenie wysokości nierówności powierzchni od płaszczyzny odniesienia (S_a). Czy inne wartości obliczenia chropowatości były brane pod uwagę, dlaczego akurat ten parametr został wybrany?
5. Wykresy (Rysunek 4 B, C, D) w publikacji Materials, mogłyby ustawione przy jednej osi X z jednym opisem osi Y, wówczas nie byłoby konieczności jej powtarzania, ponieważ skala jest zachowana taka sam.
6. Opis kąta zwilżania w Tabeli 1, CA od nazwy angielskiej 'contact angle' może być myląca, można stosować po prostu θ .

7. Brak podania szczegółów wody dejonizowanej, jaki typ a jeśli otrzymana w laboratorium to przy użyciu jakiego sprzętu

Uwagi o charakterze dyskusyjnym i uwagi redakcyjne zawarte w tej recenzji nie wpływają na pozytywną ocenę pracy. Są one wskazówkami przydanymi w dalszym rozwoju naukowo-badawczym Doktorantki.

3. Ocena końcowa pracy

Po zapoznaniu się z pracą doktorską i przeanalizowaniu wyników stwierdzam, że cele badawcze zostały bardzo dobrze opisane i rozważone. Praca ta jest świetnym przykładem interdyscyplinarnych badań obejmujących metody wywarzania syntezy i charakteryzacji fizykochemicznej otrzymanych warstw, a także odpowiedzi biologicznych na ich własności. Z tego względu praca powinna zostać wyróżniona, ponieważ obejmuje niezwykle ważne tematy z możliwością zastosowania otrzymanych wyników nie tylko w elektrodach stosowanych do stymulacji układu nerwowego.

Praca Pani mgr Dominiki Czerwińskiej-Główkiej spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim, określone ustawą o stopniach i tytułach naukowych. Wnioskuje do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych na Uniwersytecie Śląskim w Gliwicach o przyjęcie rozprawy doktorskiej i o dopuszczenie Pani mgr Dominiki Czerwińskiej-Główkiej do publicznej obrony, oraz o wyróżnienie jej pracy.



Urszula Stachewicz