



**UNIwersYTET MEDYCZNY**  
**IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU**

**Dr hab. n. farm. Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska**

**Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku**

**Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu**

**Recenzja**

**rozprawy doktorskiej**  
**mgr inż. Katarzyny Piekłarz**

**pt.**

**„HYDROŻELE CHITOZANOWE, WZBOGACONE NANOSTRUKTURALNYMI  
MATERIAŁAMI WĘGLOWYMI, PRZEZNACZONE NA SCAFFOLDY DO  
HODOWLI KOMÓRKOWYCH”**

**Recenzowana rozprawa doktorska została wykonana na Wydziale Inżynierii Procesowej  
i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej**

**Promotor pracy: Dr hab. inż. Piotr Owczarz, prof. uczelni**

**Opiekun pracy: Dr hab. Zofia Modrzejewska**

Dr hab. n. farm. Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Recenzja

rozprawy doktorskiej  
mgr inż. Katarzyny Pieklarz

pt.

„Hydrożele chitozanowe, wzbogacone nanostrukturalnymi materiałami węglowymi,  
przeznaczone na scaffoldy do hodowli komórkowych”

Recenzowana rozprawa doktorska została wykonana na Wydziale Inżynierii Procesowej  
i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej

Promotor pracy: Dr hab. inż. Piotr Owczarz, prof. uczelni

Opiekun pracy: Dr hab. Zofia Modrzejewska

Regeneracja uszkodzonych tkanek jest dużym wyzwaniem dla współczesnej medycyny, pomimo znacznego rozwoju tej dziedziny badań. Inżynieria tkankowa wypełnia lukę pomiędzy terapią zachowawczą, będącą częścią konwencjonalnych metod leczenia, a transplantologią. Dyscyplina ta umożliwia rekonstrukcję zniszczonych fragmentów, odbudowę ubytków w organizmie, wykorzystując zdobycze nowoczesnych technologii, osiągnięcia nauk przyrodniczych i inżynierii materiałowej. Ta dziedzina nauk technicznych wykorzystując wiedzę medyczną pozwala na usprawnienie funkcji tkanek lub narządów poprzez konstruowanie trójwymiarowych rusztowań pozwalających na prowadzenie hodowli komórkowych. Dla pełnego zrozumienia procesów niezbędnych do osiągnięcia wyznaczonego celu konieczne jest poszerzenie wiedzy o pojęcia autoregeneracji uszkodzonych tkanek wraz z mechanizmami mającymi wpływ na ten proces, morfogenezy, jak również pozyskiwania i prowadzenia hodowli z wykorzystaniem komórek. Wymienione zagadnienia są domeną medycyny regeneracyjnej, będącej szerszą dziedziną uzupełniającą wiedzę. Założenia przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej wpisują się w jeden z istotnych klinicznie nurtów naukowych, jakim jest poszukiwanie nowych, małoinwazyjnych rozwiązań w pełni biozgodnych z ludzkim organizmem. Badania nad termowrażliwymi układami chitozanowymi spełniającymi wymagania potencjalnego ich zastosowania w inżynierii tkankowej jako scaffoldy do hodowli komórkowych wymagają skrupulatnej, systematycznej analizy eksperymentalnej oraz wiedzy w wielu obszarach nauki. Zaprojektowanie nośnika zawierającego polimer o charakterze mukoadhezyjnym, będącego konstrukcją umożliwiającą adhezję, proliferację oraz różnicowanie się komórek wymaga wielokierunkowych badań o charakterze technologicznym, analitycznym oraz aplikacyjnym.

Głównym celem badań prowadzonych przez Panią mgr inż. Katarzynę Piekłarz było wytworzenie nowych struktur chitozanowych, w postaci termowrażliwych hydrożeli, formujących się w temperaturze zbliżonej do fizjologicznej temperatury ciała ludzkiego, przeznaczonych do potencjalnego zastosowania w inżynierii tkankowej jako scaffoldy do hodowli komórkowych. Aspektem nowości omawianej rozprawy doktorskiej jest zastosowanie soli disodowej 5'-monofosforanu urydyny (UMP) jako środka wspierającego sieciowanie. Według doniesień literaturowych wymieniona substancja wykazuje działanie neuroprotektoryjne i neuroregeneracyjne. W połączeniu z roztworami mleczanu i chlorku chitozanu, tworząc nowy biomateriał, może wpłynąć na znaczne poszerzenie obecnego stanu

wiedzy w obszarze hydrożeli chitozanowych wrażliwych na wzrost temperatury. Dotychczas najczęściej opisywane w dostępnym piśmiennictwie są termowrażliwe hydrożele zawierające sól disodową  $\beta$ -glicerofosforanu ( $\beta$ -GP).

Realizację zadań eksperymentalnych prowadzących do osiągnięcia założonego celu Autorka rozprawy doktorskiej podzieliła na następujące etapy:

- wyznaczenie temperatury przemiany żol-żel koloidalnych roztworów soli chitozanu,
- charakterystyka strukturalna i morfologiczna hydrożeli,
- analiza termiczna układów chitozanowych,
- badanie uwalniania środków wspierających sieciowanie w warunkach *in vitro*,
- zaproponowanie mechanizmów formowania hydrożeli,
- określenie biogodności *in vitro* układów chitozanowych (badania cyto- i genotoksyczności).

Kolejnym celem postawionym przez Doktorantkę w toku prowadzonych badań eksperymentalnych była modyfikacja otrzymanych hydrożeli chitozanowych. Zadanie badawcze polegało na wprowadzeniu nanonapełniacza w postaci tlenku grafenu do matrycy polimerowej hydrożeli. W tym segmencie prowadzonego eksperymentu Autorka pracy zaplanowała analizę właściwości mechanicznych oraz wpływu dodatku tlenku grafenu na biokompatybilność układów modyfikowanych dodatkiem w porównaniu z hydrożelami niezawierającymi nanonapełniacza. Ze względu na obecność ujemnie naładowanej grupy fosforanowej w soli disodowej 5'-monofosforanu urydyny mogącej spowodować termiczną przemianę żol-żel układów chitozanowych, Doktorantka wysunęła tezę zastąpienia pięciowodnej soli disodowej  $\beta$ -glicerofosforanu wyżej wymienionym związkami.

Prace w obszarze badawczym Pani mgr inż. Katarzyna Pieklarz rozpoczęła od przygotowania niemodyfikowanych termowrażliwych hydrożeli chitozanowych. Preparatyka obejmowała sposób wytwarzania układów z solą disodową  $\beta$ -glicerofosforanu ( $\beta$ -GP), jak również sposób przygotowania układów z solą disodową 5'-monofosforanu urydyny (UMP). Otrzymane preparaty poddano licznym badaniom charakteryzującym ich właściwości fizykochemiczne. Prace obejmowały pomiary reologiczne dotyczące określenia punktu przemiany żol-żel analizowanych układów, wykonano nieizotermiczne pomiary oscylacyjne, a także dla każdego wariantu soli chitozanu przeprowadzono izotermiczne pomiary oscylacyjne w temperaturze ciała ludzkiego, aby umożliwić zdefiniowanie czasu żelowania koloidów. Pogłębienie badań nad temperaturą przemiany żol-żel rozpatrywanych koloidów, poza badaniami reologicznymi Doktorantka uzyskała wykorzystując spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), które przeprowadzono w Centrum

NanoBioMedycznym Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. W celu określenia struktury liofilizowanych hydrożeli wykonano badania stosując spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Oprócz spektroskopii FTIR do analizy zmian strukturalnych układów chitozanowych zastosowano kolejną technikę badawczą, a mianowicie dyfrakcję rentgenowską (XRD). Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) posłużyła Autorce pracy do obrazowania mikrostruktury powierzchni otrzymanych scaffoldów. Badania termiczne liofilizowanych hydrożeli chitozanowych przeprowadzono metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Badane hydrozele chitozanowe charakteryzowane były również pod względem morfologicznym. Następnym etapem analizy hydrożeli były badania biologiczne w celu zweryfikowania biogodności otrzymanych preparatów, określenia ich cytotoksyczności i genotoksyczności. Eksperymenty prowadzone były w warunkach *in vitro* na liniach komórkowych

Kolejnym etapem prac doświadczalnych było sporządzenie i przeanalizowanie właściwości fizykochemicznych modyfikowanych (nanokompozytowych) termowrażliwych hydrożeli chitozanowych. Przeprowadzono analogiczne badania dotyczące właściwości reologicznych koloidalnych roztworów soli chitozanu zawierających tlenek grafenu oraz charakterystykę strukturalną i morfologiczną hydrożeli chitozanowych z tlenkiem grafenu. Oceniono biokompatybilność w warunkach *in vitro*, analizując cytotoksyczność i genotoksyczność hydrożeli.

Ważne etapy prac stanowiła każdorazowa interpretacja wyników przeprowadzanych badań w poszczególnych fazach, pozwalająca wyciągać wnioski i prawidłowo ukierunkować logiczny przebieg dalszych stadiów badań.

Starannie zaprojektowane, a następnie konsekwentnie realizowane badania eksperymentalne doprowadziły Doktorantkę do osiągnięcia wytyczonych założeń i celów badawczych oraz potwierdzenia tezy. Skrupulatnie prowadzone badania, dobór polimeru bazowego, szeregu substancji pomocniczych, materiałów badawczych, metod analitycznych, a także zaawansowanych badań i nowoczesnych technik zaowocowały sukcesem w postaci możliwości otrzymania nowych biomateriałów o interesujących właściwościach aplikacyjnych wpisujących się w nowoczesny trend inżynierii tkankowej współczesnej medycyny. Praktycznym wymiarem prowadzonych badań i uzyskanych rezultatów jest udzielenie patentów na zgłoszone wynalazki przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej. Element nowości zawarty w badaniach, podnosi znacząco rangę prac badawczych realizowanych przez Doktorantkę. Innowacyjność uwidoczniła podczas wielokierunkowej oceny hydrożeli chitozanowych wymagała doskonałego warsztatu, zaprezentowanego przez

Autorkę rozprawy doktorskiej. O multidyscyplinarnym podejściu do badań prowadzonych w wielu obszarach wiedzy dowodzi współpraca Pani mgr inż. Katarzyny Piekłarz z wieloma wydziałami Politechniki Łódzkiej, z Centrum NanoBioMedycznym Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, a także z Zakładami Chemii i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Nie bez znaczenia pozostaje również umiejętność pozyskiwania funduszy na prowadzone badania. Źródłem finansowania badań były m.in. środki pozyskane z Narodowego Centrum Nauki, jak również z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju wspólnie z Ministerstwem Nauki i Technologii ChRL. Zaprojektowanie i przeprowadzenie wielu badań eksperymentalnych było możliwe dzięki opiece merytorycznej promotora pracy Pana dr hab. inż. Piotra Owczarza, prof. uczelni i opiekuna pracy Pani Dr hab. Zofii Modrzejewskiej. Ich profesjonalizm pozwolił na ukierunkowanie badań ze szczególną dokładnością oraz zapewnienie specjalistycznej aparatury w kierowanej jednostce naukowo-badawczej.

Rozprawa doktorska ma układ klasyczny; zawiera cel i tezę pracy, część literaturową oraz badawczą, podsumowanie i wnioski końcowe zawarte w osiemnastu rozdziałach. Ponadto w pracy zamieszczono wykaz oznaczeń, wprowadzenie, bibliografię, spisy tabel i rysunków, streszczenie w języku polskim i angielskim, dane dotyczące współpracy, a także dorobek naukowy. Struktura pracy jest uporządkowana i stanowi logiczną całość. Praca jest poprawnie napisana, starannie zredagowana i posiada estetyczną szatę graficzną. Piśmiennictwo zgromadzone przez Autorkę pracy jest aktualne i ściśle związane z realizowaną tematyką. Dorobek naukowy Pani mgr inż. Katarzyny Piekłarz zawiera dziewięć publikacji naukowych, z których cztery znajdują się w bazie Journal Citation Reports (JCR) oraz dwa rozdziały w monografiach naukowych. Wszystkie wymienione pozycje posiadają punktację MEiN 449 pkt., a łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 15,315. Indeks Hirscha według bazy Web of Science i bazy Scopus wynosi 5. Liczba cytowań wynosi 46 (bez autocytowań 30) według bazy Web of Science oraz 51 (bez autocytowań 35) według bazy Scopus. O wiodącym wpływie Doktorantki na powstanie przytoczonych prac badawczych świadczy fakt, że jest Ona w ośmiu z nich pierwszym autorem, a w dwóch rozdziałach monografii jedynym. Pani mgr inż. Katarzyna Piekłarz uczestniczyła aktywnie w konferencjach naukowych o zasięgu międzynarodowym, jak również krajowym. Zaprezentowała sześć tematów, w tym cztery wystąpienia ustne i dwie prezentacje posterowe w pierwszym rodzaju wymienionych konferencji oraz dwadzieścia dziewięć prezentacji na krajowych konferencjach, w tym dwadzieścia jeden wystąpień ustnych i osiem komunikatów w formie posteru. O innowacyjności badań prowadzonych przez Doktorantkę świadczą

patenty dotyczące prowadzonych prac eksperymentalnych. Rozwiązanie objęte ochroną patentową było wielokrotnie nagradzane podczas międzynarodowych wystaw wynalazków, uzyskując trzy złote medale, jeden srebrny oraz nagrodę specjalną. Autorka rozprawy doktorskiej była wielokrotnie nagradzana i wyróżniana, m.in. przez Rektora Politechniki Łódzkiej nagrodą wspierającą doskonałość naukową w ramach programu *Inicjatywa doskonałości – uczelnia badawcza*, w postaci stypendium dla najlepszych doktorantów, a także za prezentacje na konferencjach naukowych i udział w konkursie. Doktorantka jest członkiem Polskiego Towarzystwa Chitynowego, uczestniczy w pracach komisji, rad i samorządów dotyczących Doktorantów Politechniki Łódzkiej. Pani mgr inż. Katarzyna Piekłarz zdobyła doświadczenie w prowadzeniu prac naukowych i rozwojowych jako kierownik projektu badawczego dla młodych naukowców oraz uczestników studium doktoranckiego Wydziału Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej. Uczestnicząc w specjalistycznych szkoleniach w formie warsztatów, sympozjów związanych tematycznie z technologią badań stosowaną przez Doktorantkę, pogłębiała swoją wiedzę i doskonaliła techniki badawcze.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Piekłarz zawiera istotne osiągnięcia naukowe wpisujące się w nowoczesny trend technologii inżynierii tkankowej. Wymiernym efektem wielokierunkowych badań o charakterze technologicznym, analitycznym i aplikacyjnym jest możliwość zastosowania otrzymanych zmodyfikowanych hydrożeli chitozanowych przeznaczonych na scaffoldy do hodowli komórkowych. Analiza rozprawy doktorskiej pozwala zauważyć dobre przygotowanie i doświadczenie badawcze Autorki, znajomość procedur, procesów technologicznych, samodzielność w prowadzeniu badań, a także umiejętność wyciągania wniosków i interpretacji uzyskanych rezultatów.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. „Hydrożele chitozanowe, wzbogacone nanostrukturalnymi materiałami węglowymi, przeznaczone na scaffoldy do hodowli komórkowych” spełnia wymogi przewidziane w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.). Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej, spełniającej kryteria, dotyczące wyróżniania prac doktorskich z dyscypliny *Inżynieria Chemiczna* na Wydziale Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej. W związku z powyższym, zwracam się do Rady ds. Stopni Naukowych Politechniki Łódzkiej w dyscyplinie nauki chemiczne, inżynieria chemiczna, technologia żywności i żywienia

o dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Piekłarz do dalszych etapów w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie *Inżynieria Chemiczna* Politechniki Łódzkiej.

Wrocław, 31.08.2023 r.

Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska

Wrocław, 31.08.2023r.

Katarzyna Małolepsza - Jarmołowska