



KATOLICKI UNIWERSYTET LUBELSKI JANA PAWŁA II  
Wydział Medyczny  
INSTYTUT NAUK BIOLOGICZNYCH

Dr hab. Maciej Masłyk, Prof. KUL  
Katedra Biologii Molekularnej  
Instytut Nauk Biologicznych  
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Lublin, 26.01.2024

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
Mgr Sylwii Wójcik-Mieszawskiej  
pt. „Analiza działania frakcji polisacharydowo-proteinowej otrzymanej z  
pływu celomatycznego dżdżownicy *Dendrobaena veneta* na komórki grzyba  
*Candida albicans*”,  
wykonanej w Instytucie Nauk Biologicznych,  
Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie  
Pod kierunkiem dr hab. Marty Fiołki, Prof. UMCS**

Rozprawa doktorska mgr Sylwii Wójcik-Mieszawskiej to element wieloletnich badań zespołu Katedry Immunobiologii UMCS pod kierunkiem dr hab. Marty Fiołki, Prof. UMCS, dotyczących otrzymywania, charakterystyki i badania aktywności biologicznej składników pochodzących z płynu jamy ciała dżdżownic *Dendrobaena veneta*.

Przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi cykl czterech prac o charakterze doświadczalnym opublikowanych w latach 2020, 2021 i 2023. Wszystkie prace zostały opublikowane w tym samym czasopiśmie *Scientific Reports*. Sumaryczny współczynnik wpływu IF przedstawionych prac to 19,35.

W przedstawionym cyklu czterech publikacji, w dwóch (Publikacja P3 oraz P4) Doktorantka jest wiodącym autorem. W publikacji pierwszej (P1) jest drugim autorem oraz w publikacji drugiej (P2) jest trzecim autorem. Biorąc pod uwagę pozycję Doktorantki w ocenianych pracach oraz oświadczenia pozostałych współautorów, należy zwrócić uwagę na bardzo duży wkład Pani mgr Sylwii Wójcik-Mieszawskiej w powstanie tych dzieł. Widać, że Doktorantka angażowała się praktycznie w każdy etap powstawania tych prac, co świadczy o dojrzałości naukowej i znacznej samodzielności. Z drugiej strony, liczny skład współautorski prezentowanego cyklu publikacji



świadczy o umiejętności doktorantki w pracy zespołowej, co jest kluczowe w przypadku badań w dyscyplinie nauki biologiczne.

Autorem korespondencyjnym we wszystkich czterech publikacjach jest promotorka Pani dr hab. Marta Fiołka, Prof. UMCS.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że wszystkie prezentowane przez doktorantkę prace są publikacjami o bardzo wysokiej jakości naukowej. Składają się na nie wyniki licznych eksperymentów z zastosowaniem zaawansowanej metodologii, od hodowli dżdżownic, poprzez badania składu płynu celomatycznego, technik proteomicznych, metabolomicznych, do bogatego panelu badań mikroskopowych. Jednocześnie poruszana tematyka badawcza jest bardzo aktualna.

Coraz częściej pojawiające się zjawisko lekooporności a szczególnie wielolekooporności mikroorganizmów stanowi dzisiaj poważny problem i spore wyzwanie dla medycyny i terapii, jak również dla badaczy. Odpowiedzią na to zagrożenie jest podejmowanie interdyscyplinarnych działań badawczych mających na celu projektowanie oraz rozwijanie nowych terapii, które pozwolą na osiągnięcie przewagi w tym swoistym „wyścigu zbrojeń”. Przykładem takich działań jest niniejsza rozprawa doktorska, w której opisane jest poszukiwanie nowych substancji przeciwgrzybowych z nietypowego źródła. Następnie określony jest skład preparatu z zastosowaniem nowoczesnych technik spektrometrii mas LC-ESI\_MS czy metody MED-FASP, zbadana jest aktywność biologiczna wraz z określeniem potencjalnych mechanizmów działania preparatu w komórkach *Candida* na poziomie komórkowym, metabolizmu czy organelli komórkowych. A wszystko jest podparte wysokowydajnym obrazowaniem z zastosowaniem transmisyjnej i skaningowej mikroskopii elektronowej czy mikroskopii sił atomowych. Skomponowany w ten sposób zestaw wyników otwiera nowe możliwości na walkę z kandydozą i może stanowić motywację dla innych badaczy do rozwijania nowych sposobów przeciwdziałania infekcjom grzybowym. Tego typu podejście badawcze jest bardzo istotne, gdyż nie tylko pokazuje, że nowy preparat działa ale również wskazuje mechanizmy jego aktywności. Jest to o tyle istotne, że preparat może służyć pomocą w omijaniu czy pokonywaniu mechanizmów oporności, które są wykorzystywane przez patogeny do radzenia sobie z antybiotykami systemowymi. Dlatego uważam, że poruszona problematyka badawcza w niniejszej rozprawie jest aktualna i wpisuje się w dyscyplinę nauki biologiczne.



Przedstawiona rozprawa doktorska to autoreferat składający się z wykazu prac naukowych wchodzących w skład cyklu, spisu treści, wykazu skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz opisu badań zawartych w publikacjach. Na opis merytoryczny składa się sześciostronicowy wstęp, w którym Doktorantka przedstawia w sposób syntetyczny i przejrzysty stan wiedzy dotyczący biologii dżdżownic, badań ich płynu celomatycznego, jego składu oraz aktywności biologicznej oraz zarysowuje problem badawczy dotyczący infekcji grzybowych powodowanych przez drożdżaka *Candida albicans* ze szczególnym wskazaniem problemu lekooporności. Wstęp kończy się paragrafem, w którym Autorka stwierdza, że w związku ze wzrastającym problemem infekcji grzybowych powodowanych przez *C. albicans* konieczne jest poszukiwanie nowych, skutecznych terapii, które pomogą w walce z tym patogenem, a jedną z odpowiedzi na przedstawiony problem może być polisacharydowo-białkowa frakcja płynu celomatycznego *D. veneta* uzyskana w toku badań zespołu Katedry Immunobiologii UMCS o nazwie Venetin-1. Po wstępie w rozdziale drugim „Hipoteza i cel pracy” autorka formułuje cel swojej rozprawy doktorskiej oraz przedstawia sześć głównych zadań badawczych, które mają doprowadzić do realizacji przedstawionych założeń. Wyszczególnione zadania sformułowane są w sposób jasny i przejrzysty i bez trudności wskazują na cel końcowy obrany przez zespół badawczy. W rozdziale trzecim „Stosowane metody oraz omówienie wyników” autorka w bardzo przystępnej formie opisuje metody badawcze zastosowane w realizacji projektu oraz omawia uzyskane wyniki. Na uwagę zasługują zastosowane odnośniki wskazujące czytelnikowi w której z czterech publikacji znalazł się omawiany wynik. Wyniki dotyczyły hodowli *Dendrobaena veneta*, uzyskania płynu celomatycznego oraz jego aktywnej frakcji. Autorka opisuje wyniki dotyczące wpływu frakcji na poszczególne elementy komórek *C. albicans* z zastosowaniem mikroskopii optycznej, fluorescencyjnej, skaningowej oraz transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Ponadto, zastosowano mikroskopię sił atomowych w celu analizy powierzchni komórek *C. albicans* hodowanych pod presją aktywnej frakcji. Następnie Doktorantka przedstawia szereg technik (m.in. cytometrię przepływową, analizy spektroskopowe) udowadniając wpływ frakcji na metabolizm komórek grzyba, wzrost ilości komórek martwych oraz niszczenie ściany komórkowej. Opis wyników kończy podrozdział, w którym Autorka określa skład aktywnej frakcji z zastosowaniem badań proteomicznych SEC, LC\_ESI\_MS, MED\_FASP. Dodatkowo



analizy proteomiczne komórek *C. albicans* pozwoliły na zaproponowanie celów molekularnych dla składników aktywnej frakcji. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że przeprowadzone badania są kompleksowe i przedstawiają na różnych poziomach aktywność preparatu przeciwgrzybowego. Rozdział czwarty stanowi „Dyskusja”, w której Autorka dokonuje syntezy uzyskanych wyników i konfrontuje je z obecnym stanem wiedzy na temat składu oraz aktywności biologicznej składników płynu jamy ciała dżdżownic. Porównuje efekt działania frakcji z aktywnością antybiotyków systemowych wskazując na podobieństwa (lub brak) w ich działaniu. Jednocześnie trafnie odnosi się do podobnych kompleksów białkowo-polisacharydowych uzyskanych przez innych badaczy z innych źródeł wskazując na analogiczne działanie biologiczne tych związków tj. przeciwdrobnoustrojowe, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe czy przeciwzapalne potwierdzając tym samym zasadność swoich badań, które w konsekwencji mogą doprowadzić do zaproponowania nowej terapii przeciwgrzybowej. W mojej ocenie „Dyskusja” jest napisana w sposób wyczerpujący i uporządkowany.

W rozdziale piątym autoreferatu „Podsumowanie i wnioski” Autorka podsumowuje uzyskane wyniki formułując osiem wniosków, które trafnie odpowiadają na założenia (zadania) zaproponowane w rozdziale „Hipoteza i cel pracy”. Tym samym uzasadnia i wskazuje, że wszystkie zadania postawione na etapie koncepcji zostały zrealizowane.

Rozdział szósty stanowi spis literatury ujętej w 180 pozycjach cytowanej w całości autoreferatu. Pozycje literaturowe są odpowiednio dobrane i dotyczą zagadnień odnoszących się do treści rozprawy.

W dalszej części opracowania Pani mgr Sylwia Wójcik-Mieszawska zamieściła wydruki publikacji stanowiących cykl wchodzący w skład rozprawy oraz oświadczenia współautorów.

Uwagę recenzenta zwróciła końcowa część autoreferatu zatytułowana „Życiorys naukowy”, która wskazuje na bardzo bogaty dorobek naukowy Doktorantki tj. siedem publikacji o zasięgu międzynarodowym, siedem rozdziałów w recenzowanych monografiach naukowych, trzynaście komunikatów konferencyjnych oraz udział w dwóch grantach badawczych co potwierdza znaczną dojrzałość naukową.

Podczas lektury niniejszej rozprawy nasunęły się recenzentowi następujące pytania i uwagi:

1. Na stronie 13 Autorka cytuje wyniki badań, które potwierdziły toksyczność płynu celomatycznego wobec komórek kręgowców powodowaną głównie przez lizeninę. Jednocześnie potwierdzono obecność lizeniny w aktywnej frakcji (str. 26). Jak Doktorantka odniesie się do tego aspektu biorąc pod uwagę przyszłość preparatu Venetin-1 jako potencjalnego preparatu, który miałby być stosowany u ludzi?
2. Czy wyznaczono dla AAF wartość MIC (minimalne stężenie hamujące) oraz MFC (minimalne stężenie grzybobójcze) wobec *C. albicans* jako podstawowe parametry aktywności substancji przeciwgrzybowych?
3. Proszę o wyjaśnienie zasadności stosowanych stężeń frakcji (rozdział 3.3, strona 18) w badaniach wpływu aktywnej frakcji na komórki *C. albicans* (m.in. badania mikroskopowe, proteomiczne).

Podsumowując, z przyjemnością mogę stwierdzić, że Doktorantka zaprezentowała bardzo dobrą znajomość zagadnień poruszanych w rozprawie, wykazała się znaczną samodzielnością, świetnie opanowała warsztat metodologiczny a także wykazała swoje zdolności w opracowaniu i interpretacji wyników badań. Rozprawa doktorska mgr Sylwii Wójcik-Mieszawskiej spełnia warunki wymagane ustawą o stopniach i tytule naukowym (art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce) i stanowi podstawę do nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Wnoszę do Rady Instytutu Nauk Biologicznych Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie o dopuszczenie mgr Sylwii Wójcik-Mieszawskiej do kolejnych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Marek Kaczyński