



Toruń, 9 października 2025 r.

dr hab. Justyna Kozłowska, prof. UMK
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Chemii
Laboratorium Funkcjonalnych Materiałów Polimerowych
justynak@umk.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej

mgr inż. Agnieszki Kubiś

pt. „Synteza i charakterystyka peptydów proregeneracyjnych
oraz ich kompozytów z chitozanem do zastosowań w regeneracji tkanki
kostnej”

Promotor: prof. dr hab. Sylwia Rodziewicz-Motowidło

Promotor pomocniczy: dr Natalia Karska

Recenzja została wykonana na podstawie pisma Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne
Uniwersytetu Gdańskiego z dnia 17 września 2025 r.



Tematyka rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Kubiś pt. „Synteza i charakterystyka peptydów proregeneracyjnych oraz ich kompozytów z chitozanem do zastosowań w regeneracji tkanki kostnej” dotyczy projektowania i otrzymywania nowoczesnych biomateriałów peptydowo-polimerowych przeznaczonych do zastosowań w inżynierii tkankowej, ze szczególnym uwzględnieniem procesów regeneracji tkanki kostnej. Praca porusza zagadnienia niezwykle aktualne i istotne zarówno z punktu widzenia nauk podstawowych, jak i potencjalnych zastosowań klinicznych. Regeneracja tkanki kostnej wciąż stanowi wyzwanie medycyny współczesnej, szczególnie w przypadkach rozległych ubytków pourazowych, nowotworowych czy wynikających z chorób degeneracyjnych. Pomimo stosowania autograftów i allograftów, ich stosowanie jest ograniczone przez niewystarczającą dostępność materiału, ryzyko odrzutu immunologicznego i możliwość powikłań pozabiegowych, co skłania badaczy do poszukiwania alternatywnych, bioaktywnych materiałów wspierających proces osteogenezy. Jednym z dynamicznie rozwijających się kierunków jest zastosowanie polimerów naturalnych, takich jak chitozan, który dzięki biokompatybilności i biodegradowalności znajduje szerokie zastosowanie jako matryca do implantów i rusztowań kostnych. Równolegle coraz większe zainteresowanie budzą peptydy bioaktywne, które są zdolne do stymulowania proliferacji komórek, indukowania mineralizacji i przyspieszania procesów gojenia. Rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Kubiś wpisuje się w te nowoczesne trendy poprzez opracowanie nowych kompozytów chitozanowych funkcjonalizowanych peptydami proregeneracyjnymi, ukierunkowanych na poprawę bioaktywności i zdolności do wspierania regeneracji kości. Autorka połączyła zaawansowaną syntezę peptydów z chemiczną modyfikacją polimerów naturalnych oraz przeprowadziła wieloaspektową charakterystykę fizykochemiczną i biologiczną uzyskanych materiałów. Tematyka ta jest nie tylko aktualna, ale i odpowiada na realne potrzeby kliniczne oraz wpisuje się w światowe badania nad nowymi biomateriałami dla medycyny regeneracyjnej.



Przedstawiona do recenzji praca doktorska ma charakter monograficzny i liczy 247 stron zasadniczego tekstu. Została przygotowana w sposób przejrzysty i starannie przemyślany. Otwierają ją elementy formalne, takie jak strona tytułowa, spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz skrótów. Po nich następuje obszerna część literaturowa, w której Doktorantka szeroko omawia budowę i procesy regeneracji tkanki kostnej, rolę komórek kostnych, procesy gojenia, a także właściwości chitozanu i jego modyfikacji oraz znaczenie peptydów bioaktywnych i w inżynierii tkankowej. Autorka prezentuje aktualny stan wiedzy, opierając się na bogatej bibliografii obejmującej zarówno klasyczne pozycje, jak i najnowsze doniesienia z ostatnich lat.

Po przeglądzie literatury Autorka umieściła rozdział zatytułowany „Cel pracy”, w którym jasno formułuje cel główny oraz cele szczegółowe badań. Zamierzeniem było opracowanie innowacyjnych kompozytów opartych na chitozanie funkcjonalizowanym peptydami o właściwościach proregeneracyjnych, z możliwością kontrolowanego uwalniania bioaktywnych sekwencji i stymulacji regeneracji kości. Warto jednak zaznaczyć, że Autorka nie przedstawiła jednoznacznie sformułowanej tezy pracy – cele opisano w sposób poprawny i ambitny, lecz nie zostały one ujęte w postaci weryfikowalnej tezy naukowej, co jest zwykle zalecane w rozprawach doktorskich.

Kolejna część pracy obejmuje opis materiałów i metod badawczych, w której szczegółowo przedstawiono proces syntezy peptydów, ich oczyszczania i charakterystyki, a także funkcjonalizację chitozanu z wykorzystaniem pochodnej maleimidoglicyny oraz wybranych peptydów. Opisano również przygotowanie kompozytów chitozanowo-bioszklanych zawierających peptydy w różnych formach – kowalencyjnie związane, adsorbowane oraz w postaci fibryli – a także zastosowane techniki ich charakterystyki fizykochemicznej i biologicznej.

Najobszerniejsza część pracy to prezentacja wyników własnych wraz z dyskusją. Autorka omawia skuteczność różnych strategii funkcjonalizacji chitozanu peptydami, przedstawia charakterystykę uzyskanych kompozytów, analizuje ich morfologię, właściwości powierzchniowe, kinetykę uwalniania peptydów oraz wyniki badań



biologicznych *in vitro* i *in vivo*. Dyskusja wyników jest obszerna i krytyczna, z odniesieniami do literatury. Pracę zamyka wykaz dorobku naukowego Autorki oraz obszerna bibliografia licząca 284 pozycje.

Należy jednak zauważyć istotny mankament pracy – brak wyodrębnionego rozdziału końcowego zawierającego zwięzłe podsumowanie oraz jednoznacznie sformułowane wnioski końcowe. Choć w poszczególnych rozdziałach pojawiają się komentarze i częściowe konkluzje, brakuje osobnej sekcji, w której Autorka zebrałaby kluczowe rezultaty i jednoznacznie odniosła się do celów badawczych sformułowanych we wstępie. Taki rozdział jest standardowo oczekiwany w rozprawach doktorskich, ponieważ pozwala czytelnikowi i recenzentowi szybko zidentyfikować najważniejsze osiągnięcia badawcze. Jego brak utrudnia pełną ocenę wartości uzyskanych wyników.

Podstawowym założeniem pracy było opracowanie nowych bioaktywnych kompozytów przeznaczonych do regeneracji tkanki kostnej, w których nośnikiem jest chitozan, a funkcję czynnika proregeneracyjnego pełnią zaprojektowane peptydy. Autorka skupiła się na sekwencjach rozpoznawanych przez metaloproteinazę macierzy pozakomórkowej MMP-7, co pozwala na kontrolowane uwalnianie peptydów w środowisku przebudowy tkanek. Dodatkowo zaplanowano zróżnicowanie sposobów integracji peptydów z matrycą chitozanową: poprzez trwałe wiązania kowalencyjne, adsorpcję powierzchniową oraz wprowadzanie peptydów w postaci fibryli, których degradacja przebiega w odmienny sposób. Dopelnieniem tego podejścia było zastosowanie bioszklą domieszkowanego jonami cynku lub strontu, których rola w procesach osteogenezy jest dobrze udokumentowana.

Zakres badań był bardzo szeroki i obejmował zarówno etap projektowania i syntezy peptydów, jak i przygotowanie kompleksowych kompozytów, ich wszechstronną charakterystykę fizykochemiczną, a także wstępną ocenę biologiczną. Autorka zaplanowała badania wieloaspektowe, co wymagało zastosowania wielu zaawansowanych metod analitycznych oraz współpracy interdyscyplinarnej. Metodologia została dobrana bardzo starannie i jest adekwatna do stawianych celów.



Na uwagę zasługuje wykorzystanie syntezy peptydów metodą SPPS oraz przemysłane podejście do ich chemicznej funkcjonalizacji i wiązania z chitozanem. Autorka z powodzeniem zastosowała chemiczne metody aktywacji grup chitozanu za pomocą estrów N-hydroksysukcynimidu, co pozwoliło na kontrolowane przyłączanie peptydów. Jednocześnie przeprowadziła procesy adsorpcji i tworzenia fibryli peptydowych, aby móc porównać różne strategie wiązania i ich wpływ na późniejsze uwalnianie cząsteczek aktywnych.

Charakterystyka materiałów została przeprowadzona wieloaspektowo: wykorzystano m.in. chromatografię HPLC i HILIC, spektroskopię w podczerwieni FTIR, dichroizm kołowy do analizy konformacji peptydów, transmisyjną i skaningową mikroskopię elektronową (TEM, SEM), oraz analizę termogravimetryczną (TGA). Wyniki prezentowane są w sposób przejrzysty, z odpowiednimi opisami i dyskusją. Bardzo cennym elementem jest włączenie badań biologicznych: oceniono cytotoksyczność i wpływ kompozytów na proliferację komórek osteoblastów linii hFOB, a także wykonano wstępne testy implantacyjne *in vivo*. Tak szerokie ujęcie tematu wymagało zarówno kompetencji chemicznych, jak i zrozumienia aspektów biomedycznych. Świadczy to o dużej samodzielności i dojrzałości badawczej Doktorantki.

Otrzymane kompozyty chitozanowo-bioszklane modyfikowane peptydami ug4, ug46, ug51 oraz ug52 zostały dokładnie scharakteryzowane pod względem struktury, morfologii i właściwości powierzchniowych. Autorka szczegółowo omówiła wyniki, wskazując zależności między strukturą chemiczną, sposobem sprzęgania a bioaktywnością materiałów. Wykazano, że sposób przyłączenia peptydu istotnie wpływa na jego uwalnianie: trwałe wiązania kowalencyjne prowadzą do powolnej, długotrwałej emisji czynnika aktywnego, podczas gdy fizyczne wymieszanie chitozanu, peptydów i bioszłka prowadzi do charakterystycznego profilu uwalniania z bardzo szybkim wyrzutem w początkowej fazie badań.



Analiza biologiczna potwierdziła dobrą cytokompatybilność materiałów z osteoblastami hFOB oraz brak działania toksycznego. Obserwowano także pozytywny wpływ niektórych układów na proliferację komórek kostnych. Wyniki wstępnych badań *in vivo* wskazują na potencjał kompozytów w stymulowaniu regeneracji tkanki kostnej.

Wyniki uzyskane przez Autorkę mają charakter oryginalny i wnoszą istotny wkład w rozwój dziedziny naukowej. Dane przedstawione w pracy są spójne i zostały poddane rzetelnej, krytycznej interpretacji. Autorka porównuje własne wyniki z literaturą, wskazując zarówno podobieństwa, jak i różnice oraz możliwe przyczyny uzyskanych efektów. Dyskusja ma charakter dojrzały i świadczy o dobrym rozumieniu procesów zachodzących w badanych materiałach.

Zauważalna jest dbałość o estetykę tekstu oraz poprawność merytoryczną. Tekst jest zasadniczo spójny i napisany poprawnym językiem naukowym, choć miejscami Autorka używa angielskich terminów (np. *scaffold*, *intermediat*). W polskojęzycznej rozprawie bardziej odpowiednie byłoby zastąpienie ich polskimi odpowiednikami, takimi jak „rusztowanie” czy „produkt pośredni”, co zwiększyłoby jednolitość i precyzję terminologiczną. Autorka nie ustrzegła się również pewnych skrótów myślowych i uproszczeń, a także drobnych błędów edytorskich. Widoczne jest częste ponowne przywoływanie pełnej nazwy wraz ze skrótem, np. „chitozan (CH)”, mimo że skrót został wcześniej zdefiniowany. Numeracja tabel jest niekonsekwentna – po Tabeli 14 następuje Tabela 18 (brakuje Tabel 15–17), a ponadto dwukrotnie pojawia się Tabela 23 (s. 147 oraz s. 168). Występują także błędne odniesienia do rysunków, np. zdanie „Zaprojektowanie oraz optymalizacja warunków syntezy koniugatu maleimidochitozan – (CH-Mal-Gly)-peptyd, poprzez kowalencyjne przyłączenie wybranego peptydu do chitozanu zmodyfikowanego pochodną maleimidoglicyny (Rysunek 29)” powinno odwoływać się do Rysunku 28. Zidentyfikowane usterki mają charakter redakcyjny i nie wpływają w sposób istotny na wysoką wartość merytoryczną rozprawy.



Pani mgr inż. Agnieszka Kubiś jest współautorką trzech publikacji naukowych opublikowanych w czasopismach indeksowanych w bazie *Journal Citation Reports* oraz zaprezentowała wyniki swoich badań podczas kilkunastu konferencji o zasięgu krajowym i międzynarodowym. Świadczy to o jej aktywności naukowej, zdolności do prezentowania wyników badań oraz umiejętności pracy w środowisku akademickim. Doktorantka brała również udział w wydarzeniach branżowych, takich jak targi. Ponadto jest współautorką imponującej ilości zgłoszeń patentowych (10) związanych z opracowywanymi biomateriałami, co potwierdza innowacyjny charakter jej prac i umiejętność transferu wiedzy do sfery aplikacyjnej. Publikacje oraz działania wdrożeniowe dotyczące tematyki rozprawy potwierdzają, że uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w rozwój naukowy kandydatki.

W trakcie lektury dysertacji nasunęło się kilka pytań i kwestii do przedyskutowania lub wyjaśnienia podczas obrony rozprawy doktorskiej:

- ✓ Jakie czynniki zadecydowały o wyborze chitozanu jako materiału bazowego kompozytów i czy rozważano zastosowanie innych biopolimerów?
- ✓ W pracy nie sformułowano wprost hipotezy badawczej – gdyby miała Pani ją teraz ująć jednym zdaniem, jak brzmiałaby hipoteza tej rozprawy?
- ✓ W pracy nie zaprezentowano badań właściwości mechanicznych otrzymanych kompozytów, choć w zastosowaniach kostnych parametry takie jak moduł sprężystości czy wytrzymałość na ściskanie są kluczowe. Czy Autorka planowała wykonanie takich pomiarów? Jak ocenia możliwość dostosowania mechanicznych właściwości opracowanych materiałów do wymagań implantów kostnych?
- ✓ Czy Autorka badała lub planuje zbadać, jak długotrwałe przechowywanie oraz procesy sterylizacji wpływają na strukturę chemiczną i aktywność biologiczną peptydów w otrzymanych kompozytach chitozanowych?



- ✓ Jak Autorka ocenia potencjał opracowanych materiałów w porównaniu z obecnie stosowanymi biomateriałami komercyjnymi?
- ✓ Czy opracowane koniugaty można wytwarzać w większej skali? Jakie bariery technologiczne mogą utrudniać komercjalizację tej technologii?

Pragnę dodać, że te pytania wynikają jedynie z zaciekawienia tematem, a ich rozwinięcie i przedyskutowanie w trakcie obrony pozwoli na dokładniejsze zrozumienie podejmowanych badań.

Wniosek końcowy

Podsumowując, przedstawiona rozprawa doktorska jest oryginalnym i wartościowym opracowaniem naukowym. Autorka zrealizowała wszystkie założone cele badawcze, wykazała się dużą samodzielnością, znajomością nowoczesnych metod syntezy peptydów i funkcjonalizacji polimerów oraz szerokim warsztatem analitycznym. Zaprezentowane wyniki mają potencjał aplikacyjny w medycynie regeneracyjnej. Praca z całą pewnością spełnia wymagania stawiane w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”.

Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pani mgr inż. Agnieszki Kubiś do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Justyna Kozłowska