



UMCS

prof. dr hab. Piotr Właż  
Zakład Fizjologii Zwierząt  
Instytut Biologii i Biochemii  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej  
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Tel. 81 537-59-34, faks: 81 537-59-01  
e-mail. piotr.wlaz@umcs.lublin.pl

## O C E N A

### **pracy doktorskiej mgr. Krzysztofa Siczka pt. *Nowe formy terapii nieswoistych chorób zapalnych jelita grubego w oparciu o preparaty na bazie srebra***

Nieswoiste choroby zapalne jelit to przewlekłe zaburzenia przewodu pokarmowego, charakteryzujące się zmianami zapalnymi i owrzodzeniami ściany przewodu pokarmowego, o zmiennym nasileniu i występowaniu okresów nawrotów i remisji. Szacuje się, że w Polsce z powodu tych schorzeń cierpi co najmniej 50 tys. pacjentów. Wspólnym objawem tych schorzeń są częste i długotrwałe, a przez to wycieńczające biegunki, co znacząco obniża jakość życia, negatywnie wpływając na życie osobiste pacjenta i realizację jego zawodowych planów. Etiologia tych schorzeń nie jest wyjaśniona, w związku z tym nie istnieje leczenie przyczynowe. Leczenie opiera się na farmakoterapii i interwencjach chirurgicznych. W farmakoterapii wykorzystywane są kwas 5-aminosalicylowy i jego pochodne, sulfasalazyna, kortykosteroidy, niektóre chemioterapeutyki, leki immunosupresyjne, czy przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko czynnikowi martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ ). Przy braku sukcesu terapeutycznego przy zastosowaniu farmakoterapii lub przy powikłaniach w postaci np. perforacji jelita, konieczne są zabiegi chirurgiczne, w krańcowych przypadkach kończące się proktokolektomią.

Wiele pierwiastków metalicznych, wśród nich srebro, od lat budzi duże nadzieje na szerokie zastosowanie w medycynie. Srebro w formie nanocząstek jest obecnie coraz częściej wykorzystywane w różnych dziedzinach medycyny i farmacji. Przeciwbakteryjne i przeciwzapalne działanie nowoczesnych formułacji srebra zachęca do podjęcia nimi prób leczenia nieswoistych chorób zapalnych jelit.



Tym zagadnieniom poświęcona jest rozprawa doktorska mgr. Krzysztofa Siczka, której przedmiot stanowi opracowanie nowych terapii przeciw nieswoistym chorobom zapalnym jelit opartych na preparatach zawierających srebro. W badaniach wykorzystano własnego pomysłu kulki szklane pokryte warstwą srebra oraz związki koloidalne srebra. Przedłożona do oceny praca została wykonana w Zakładzie Biochemii Międzywydziałowej Katedry Chemii i Biochemii Medycznej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. dr. hab. Jakuba Fichny. Oceniana praca jest doskonale osadzona w problematyce badań prowadzonych w ww. Zakładzie, który w obszarze dotyczącym badań nad patomechanizmami powstawania zapalnych schorzeń układu pokarmowego i poszukiwaniem nowych form ich leczenia jest wyróżniającym się ośrodkiem naukowym na arenie międzynarodowej.

Rozprawę doktorską mgr. Krzysztofa Siczka stanowi jednotematyczny cykl publikacji składający się z wymienionych poniżej jednej racy przeglądowej i czterech oryginalnych prac doświadczalnych. Wszystkie te prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych.

1. Siczek, K., Zatorski, H., Fichna, J., Silver and Other Metals in the Treatment of Gastrointestinal Diseases, *Curr. Med. Chem.*, 2015, 22, 3695-3706. (praca przeglądowa)
2. Siczek, K., Pawlak, W., Zatorski, H., Fichna, J., Measurement of Silver Nanolayer Absorption by the Body in an In Vivo Model of Inflammatory Gastrointestinal Diseases, *Metrol. Meas. Syst.*, 2016, 23, 133–142.
3. Siczek, K., Zatorski, H., Chmielowiec-Korzeniowska, A., Kordek, R., Tymczyna, L., Fichna, J., Evaluation of anti-inflammatory effect of silver-coated glass beads in mice with experimentally induced colitis as a new type of treatment in inflammatory bowel disease, *Pharmacol. Rep.* 2017, 69, 386-392.
4. Siczek, K., Fichna, J., Zatorski, H., Karolewicz, B., Klimek, L., Owczarek, A., Preparation method and pharmaceutical properties of the rectal dosage form with silver-coated glass beads for local-action applications in lower sections of the gastrointestinal tract. *Pharm. Dev. Technol.* 2017, 1-6. 10.1080/10837450.2017.1359843. [Epub ahead of print].
5. Siczek, K., Zatorski, H., Chmielowiec-Korzeniowska, A., Pulit-Prociak, J., Śmiech, M., Kordek, R., Tymczyna, L., Banach, M., Fichna, J., Synthesis and evaluation of



anti-inflammatory properties of silver nanoparticle suspensions in experimental colitis in mice. *Chem. Biol. Drug Des.* 2017, 89, 538–547.

Rozprawę otwiera zwięzły, 10-stronicowy wstęp, częściowo oparty na dołączonym do pracy obszernym artykule przeglądowym (praca nr 1), opublikowanym w *Current Medicinal Chemistry* (IF=3,249). Doktorant scharakteryzował w nim nieswoiste choroby zapalne jelit, ich epidemiologię, patogenezę oraz metody leczenia. W dalszej części wstępu mgr Krzysztof Siczek omówił obecny stan wiedzy na temat aktywności srebra wykazanej w badaniach podstawowych i klinicznych, przedstawiając różnice w działaniu starych i nowych generacji preparatów srebra, nie pomijając również aspektów toksykologicznych. Następnie Doktorant przedstawił założenia i cel pracy, omawiając szczegółowo technologię wykonania kulek szklanych z osadzoną warstwą srebra i związków koloidalnych srebra oraz dwa modele zwierzęce: model choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Omówił również metody, które wykorzystał do makroskopowej, biochemicznej i mikrobiologicznej oceny nasilenia stanu zapalnego jelita grubego. W ostatnim podrozdziale części wprowadzającej Doktorant przybliżył technologię wytwarzania wykorzystanych formułacji preparatów srebra i metody służące do oceny uwalniania srebra z powleczonych kulek szklanych. Cała część wprowadzająca napisana została bardzo przejrzyście i kompetentnie.

Zasadniczą część rozprawy doktorskiej stanowią cztery publikacje eksperymentalne, opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych z listy JCR w latach 2016–2017, których mgr Krzysztof Siczek jest współautorem. Łączny współczynnik (Impact Factor) wpływu czasopism, w których ukazały się prace, wynosi 11,69, a liczba punktów MNiSW 125, co oczywiście nie świadczy bezpośrednio o jakości poszczególnych publikacji, ale podkreśla renomę czasopism i z pewnością sugeruje wymagających recenzentów oraz wysrubowane standardy edytorskie. Udział mgr. Krzysztofa Siczka we wszystkich publikacjach składających się na rozprawę doktorską nie budzi żadnych wątpliwości. We wszystkich pracach cyklu, łącznie z pracą przeglądową stanowiącą wprowadzenie do tematyki rozprawy, Doktorant jest pierwszym autorem, co jednoznacznie wskazuje zarówno na Jego wiodącą rolę w planowaniu i przeprowadzeniu badań, jak i w opracowaniu oraz analizie wyników, a także w przygotowaniu manuskryptów do druku. Moją opinię potwierdzają dołączone oświadczenia wszystkich współautorów, którzy szczegółowo opisali swój udział w poszczególnych publikacjach, jak również wyrazili zgodę na wykorzystanie



tych prac w przewodzie doktorskim mgr. Krzysztofa Siczka. Chciałbym podkreślić, że cykl publikacji składający się na dysertację doktorską nie jest jedynie cyklem prac zbliżonych tematycznie, ale cyklem prac, które są wynikiem głęboko przemyślanej koncepcji badawczej, w której wyniki uzyskane w jednej pracy stają się inspiracją do podjęcia kolejnych badań.

Mgr Krzysztof Siczek sformułował główny cel badawczy cyklu prac jako próbę opracowania nowych terapii przeciw nieswoistym chorobom zapalnym jelit opartych na preparatach zawierających srebro, który został zrealizowany przez opracowanie i syntezę nowych preparatów na bazie srebra, badania *in vivo* w mysich modelach nieswoistych chorób zapalnych jelit i badania *in vitro*, z uwzględnieniem oceny makroskopowej, badań histopatologicznych oraz biochemicznych. Na wszystkie badania wykonywane na zwierzętach doświadczalnych zostały uzyskane zgody Lokalnej Komisji etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach w Łodzi, których kopie również zostały dołączone do rozprawy.

W pierwszej pracy eksperymentalnej (praca nr 2) zaproponowano wykorzystanie kulek szklanych z nanowarstwą srebra jako nowego, potencjalnego terapeutu w leczeniu nieswoistych chorób zapalnym jelit. Na podstawie uzyskanych wyników opracowano zalecenia dotyczące minimalnej grubości nanowarstwy srebra osadzonej na szklanych kulkach wykorzystywanych do dalszych badań, która powinna być większa niż 50 nm. Stwierdzono też, że wzrost zawartości siarki w nanowarstwie srebra po wydaleniu z jelita grubego myszy najprawdopodobniej jest związany z obecnością tego pierwiastka w treści jelita.

W drugiej pracy eksperymentalnej (praca nr 3), która jest logiczną kontynuacją badań przedstawionych w poprzedniej pracy, określono wpływ dojelitowego podania szklanych kulek powleczonych srebrem na rozwój stanu zapalnego jelit w mysim modelu choroby Leśniowskiego-Crohna (po dojelitowym podaniu TNBS) i modelu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (po podawaniu DSS w wodzie do picia). Wykazano, że kulki szklane powleczone srebrem podawane dojelitowo łagodziły stan zapalny jelit w wymienionych modelach zapalenia jelita grubego, za co odpowiadały głównie zmiany w składzie mikroflory jelit.

W trzeciej pracy eksperymentalnej (praca nr 4) zbadano możliwości stworzenia formuacji dla magnetronowo powleczonych kulek szklanych do miejscowych zastosowań przeciwzapalnych w dolnych odcinkach przewodu pokarmowego. Wyniki badań potwierdziły zasadność wykorzystania powleczonych srebrem kulek, dostarczanych do organizmu w postaci czopka, dla osłabienia stanu zapalnego rozwijającego się w dolnym odcinku przewodu



pokarmowego. Przeanalizowano również możliwość zastosowania preparatów srebra koloidalnego w leczeniu chorób zapalnych jelit.

W czwartej pracy eksperymentalnej (praca nr 5) przedstawiono wyniki badań dla nowo opracowanych wodnych zawiesin nanocząsteczkowych w mysich modelach choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Jednorazowe, dojelitowe podanie związków NanoAg1 i NanoAg2 w dawce 50 µg na zwierzę, jeden raz na dobę, łagodziło stan zapalny jelita grubego. Wyniki tych badań sugerują potencjał terapeutyczny badanych związków, które podawane dojelitowo mogą stać się punktem wyjścia dla nowej klasy terapeutyków stosowanych do leczenia chorób zapalnych jelit.

Pracę doktorską wieńczy bardzo dobrze napisane podsumowanie wyników uzyskanych w poszczególnych pracach cyklu i piśmiennictwo w liczbie 72 pozycji do wstępu i omówienia wyników.

Przeprowadzone badania pozwoliły Autorowi na wyciągnięcie szeregu szczegółowych wniosków, logicznie podzielonych na kilka grup, zakończonych sześcioma wnioskami ogólnymi będącymi odpowiedzią na postawiony cel pracy, a równocześnie odzwierciedlających uzyskane wyniki.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr. Krzysztofa Siczka zatytułowana „*Nowe formy terapii nieswoistych chorób zapalnych jelita grubego w oparciu o preparaty na bazie srebra*” została doskonale zaplanowana i zrealizowana pod względem metodycznym, a wnioski sformułowane na podstawie uzyskanych wyników stanowią istotny wkład Doktoranta do poszerzenia naszej wiedzy na temat możliwości wykorzystania nanocząstek srebra w terapii nieswoistych chorób zapalnych jelit, a niektóre wyniki stanowią pierwsze doniesienia w tym obszarze badań. Z pełnym przekonaniem uważam, że rozprawa ta spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim w myśl ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Zwracam się zatem do Wysokiej Rady o dopuszczenie mgr. Krzysztofa Siczka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dużą wartość rozprawy w zakresie oryginalności tematyki, zastosowanych metod badawczych, jak też profesjonalizmu w opracowaniu i interpretacji wyników, oraz ich upowszechnienie w renomowanych periodykach o zasięgu ogólnoswiatowym upoważnia mnie do zwrócenia się z wnioskiem o wyróżnienie ocenianej dysertacji doktorskiej.

Lublin, dn. 6 listopada 2017 r.

Kierownik Zakładu  
  
prof. dr hab. Piotr Wlaz

