
Łódź, 7 marca 2014 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Joanny Łaźniewskiej pt. „Ocena toksyczności dendrymerów wiologenowo-fosforowych oraz fosforowych wobec mysich komórek nerwowych linii N2a i mHippoE-18”

wykonanej w Katedrze Biofizyki Ogólnej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytetu Łódzkiego

Promotor pracy: prof. dr hab. Teresa Gabryelak

Promotor pomocniczy: dr Katarzyna Miłowska

Praca doktorska mgr Joanny Łaźniewskiej wykonana została w ramach Studiów Doktoranckich Genetyki Molekularnej, Cytogenetyki i Biofizyki Medycznej przy Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Dotyczy ona bardzo interesującego i aktualnego zagadnienia jakim jest wykorzystanie w medycynie związków polimerowych o wyjątkowych właściwościach, tzw. dendrymerów. Wpisuje się ona ściśle w nurt badań, realizowanych w ostatnich latach bardzo intensywnie w Katedrze Biofizyki Ogólnej, związanych z dendrymerami, a głównie z możliwościami ich wykorzystania w celach terapeutycznych. Wyniki dotychczasowych prac wskazują na szerokie możliwości zastosowań tego typu nanostruktur, nie tylko jako nośników wielu ważnych biologicznie związków, ale również cząsteczek wykazujących aktywność w układach biologicznych.

W poszukiwaniu nowych grup dendrymerów oraz ich modyfikacji do zastosowań biomedycznych, ważnym elementem jest wybór związków, które nie są toksyczne lub też skutki uboczne ich oddziaływań w układach biologicznych są niewielkie. Zainteresowanie tymi związkami jest ogromne, a do oceny potencjalnego zastosowania biomedycznego dendrymerów, kluczowym zadaniem badawczym jest zapewnienie właściwej równowagi pomiędzy ich aktywnością i toksycznością. Zaproponowany temat pracy doktorskiej dotyczący oceny toksyczności wybranych dendrymerów w organizmach żywych jest zatem bardzo aktualny i niezmiernie ważny, szczególnie w obliczu badań z ostatnich lat, które wykazały, że niektóre dendrymery mają właściwości antywirusowe i antybakteryjne. Bardzo interesujące wydają się informacje o ich zdolności do hamowania procesów agregacyjnych peptydów i białek, co może mieć szczególne znaczenie w terapii niektórych chorób neurodegeneracyjnych.

W skład przedstawionej mi do recenzji rozprawy wchodzi cztery spójne tematycznie prace, których Doktorantka jest pierwszą autorką. Trzy z nich stanowią współautorskie prace eksperymentalne, opublikowane w latach 2012-2013 w następujących czasopismach

znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR), o wysokim współczynniku oddziaływania (*impact factor*): Molecular Pharmaceutics (IF 4,570), Molecules (IF 2,428) i Cellular & Molecular Biology Letters (IF 1,953). Czwarta praca jest pracą przeglądową, opublikowaną w renomowanym czasopiśmie WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology (IF 5,681), recenzowanym przez wybitnych specjalistów i wydawców. Łączna wartość IF publikacji wchodzących w skład tej rozprawy wynosi 14,632 (110 punktów MNiSW), co świadczy o wysokim poziomie przeprowadzonych badań, ocenionych również przez niezależnych recenzentów. Tytuł rozprawy odpowiada w pełni jej zawartości.

Na wstępie pracy umieszczone jest zestawienie dorobku naukowego Doktorantki obejmującego cztery publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, cztery pozostałe prace opublikowane w pełnej wersji, a także dwa wystąpienia ustne i osiem komunikatów prezentowanych na konferencjach w kraju i za granicą. Doktorantka jest współautorką opublikowanych prac o łącznym współczynniku oddziaływania 17,533 (MNiSW 180 pkt).

Zbiór publikacji poprzedzony jest siedmio-stronicowymi streszczeniami w języku polskim oraz w języku angielskim zawierającymi 17 pozycji literatury.

Na końcu pracy zamieszczono 11 oświadczeń współautorów o ich wkładzie w powstanie publikacji, na podstawie których wiodący udział mgr Joanny Łązniewskiej nie budzi żadnych wątpliwości. W każdej z prezentowanych prac Doktorantka wykonała wszystkie prace eksperymentalne, zdecydowaną większość analiz uzyskanych wyników oraz prace związane z przygotowaniem manuskryptów do publikacji.

Zasadniczym celem prezentowanej rozprawy było zbadanie toksyczności wybranych typów dendrymerów wobec dwóch linii mysich komórek nerwowych N2a i mHippoE-18, a w szczególności porównanie toksyczności dwóch rodzajów dendrymerów wiologenowo-fosforowych generacji zerowej oraz dwóch dendrymerów fosforowych generacji 2 oraz 3.

Wybór do badań wielu parametrów odpowiedzi komórkowej (tj. morfologia, żywotność, niektóre elementy związane ze stresem oksydacyjnym, jak również określenie rodzaju śmierci komórki) na traktowanie dendrymerami fosforowymi oraz wiologenowo-fosforowymi pozwolił na ocenę szerokiego zakresu cytotoksyczności. Badania te zostały szczegółowo opisane w zamieszczonym cyklu prac oryginalnych, zarówno pod względem metod eksperymentalnych, jak i opracowania uzyskanych wyników.

Merytorycznie prace te nie budzą oczywiście żadnych zastrzeżeń, wyniki te podlegały skrupulatnej i surowej ocenie przez wysokiej klasy specjalistów, recenzentów i wydawców wyżej wymienionych, renomowanych czasopism o zasięgu międzynarodowym. Pierwsza z nich opisuje badania nad mechanizmami toksyczności kationowych dendrymerów fosforowych wobec dwóch linii mysich komórek nerwowych N2a i mHippoE-18. W dwu kolejnych pracach opublikowano bardzo ważne wyniki dotyczące toksyczności dendrymerów wiologenowo-fosforowych generacji G0. Druga z prac przedstawia wyniki tych badań wobec linii mysich komórek hipokampalnych mHippoE-18, natomiast trzecia dotyczy mysich komórek nerwiaka płodowego N2a. Wyniki badań zamieszczone w tych pracach wskazują jednoznacznie, że dendrymery wiologenowo-fosforowe są stosunkowo mało toksyczne dla badanych komórek nerwowych w porównaniu z kationowymi dendrymerami fosforowymi. Mogą one mieć szczególne znaczenie w zastosowaniach biomedycznych. Podoba mi się zamieszczony w dwu pracach graficzny schemat podsumowujący proponowany przez Autorkę mechanizm toksycznego działania badanych związków. Wnioski wynikające z przeprowadzonych badań sformułowane w zakończeniu Streszczenia Rozprawy są w pełni uzasadnione.

Czwarta pozycja zbioru jest pracą przeglądową, w której Autorka potrafiła wykorzystać dostępną literaturę, aby w sposób przejrzysty i uporządkowany przedstawić dotychczasową wiedzę o niektórych zastosowaniach dendrymerów. Chociaż głównym jej tematem jest wykorzystanie dendrymerów w odniesieniu do chorób zakaźnych („Dendrimers – revolutionary drugs for infectious diseases”), to zawiera ona również bardzo przejrzyste omówienie ich struktury, generacji oraz innych zastosowań. Uważam, że łatwiejszy byłby jednak odbiór całości rozprawy, gdyby zbiór publikacji oryginalnych poprzedzała ta praca przeglądowa, która stanowi znakomity wstęp do tematyki zawartej w dysertacji. Nie wiem dlaczego Doktorantka umieściła ją na końcu swojej pracy doktorskiej. Mam również drobną uwagę co do określenia w Streszczeniu Rozprawy linii komórkowej mHippoE-18 jako komórki „prawidłowe”, są to bowiem komórki unieśmiertelnione z zastosowaniem infekcji retrowirusem, a więc zmienione.

Komentując uzyskane rezultaty chciałabym przede wszystkim podkreślić profesjonalne podejście eksperymentalne Doktorantki oraz różnorodność stosowanych metod w zakresie badań komórkowych dotyczących tematyki Jej pracy. Wykazała się Ona ogólną wiedzą teoretyczną w dziedzinie badań nad dendrymerami, a szczególnie ich aktywności biologicznej, umiejętnością prowadzenia oryginalnych badań naukowych oraz samodzielnej analizy uzyskanych wyników.

Uważam, że przedstawiona rozprawa doktorska stanowi samodzielne rozwiązanie problemu naukowego, a uzyskane wyniki stanowią istotny, oryginalny element rozwoju badań nad skutkami ubocznymi działania dendrymerów w układach biologicznych, w odniesieniu do ich wykorzystania w nanomedycynie.

W podsumowaniu stwierdzam, że recenzowana praca doktorska Pani mgr Joanny Łaźniewskiej spełnia w pełni wymogi art. 13 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 18 marca 2011 i może stanowić podstawę do nadania stopnia doktora. Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego z wnioskiem o dopuszczenie mgr Joanny Łaźniewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na wysoki poziom naukowy dorobku publikacyjnego wchodzącego w skład recenzowanej rozprawy zgłaszam wniosek o wyróżnienie jej w przyjęty przez Radę sposób.

Łódź, 7 marca 2014 roku

Prof. dr hab. n. med. Zofia Pawłowska

