



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71
www.iitd.pan.wroc.pl

Wrocław, 2018-05-18

Dr hab. Joanna Wietrzyk, prof. PAN
Zakład Onkologii Doświadczalnej
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN
we Wrocławiu

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Moniki Dąbrzalskiej na temat „*Dendrymery fosforowe jako nośniki fotouczulaczy stosowanych w terapii fotodynamicznej*” wykonanej pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Barbary Klajnert-Maculewicz oraz promotora pomocniczego dr Anny Janaszewskiej

Na rozprawę doktorską mgr Moniki Dąbrzalskiej składają się 4 publikacje, do których autorka dołączyła kilkustronicowe streszczenia w języku polskim i angielskim, przedstawiła swój dotychczasowy dorobek naukowy oraz załączyła oświadczenia własne oraz współautorów dotyczące ich wkładu w powstawanie publikacji.

Wszystkie publikacje są pracami wieloautorskimi, w których mgr Monika Dąbrzalska jest pierwszą autorką. Prace opublikowano w czasopismach o wysokim współczynniku IF (od 2.861 do 4.44) i znaczącej liczbie punktów MNiSW (30-45). Dwa spośród tych czasopism znajdują się w pierwszym, a dwa w drugim kwartyle rankingu czasopism Journal Citation Reports (Thomson Reuters) ocenianych w zakresie danej dziedziny nauki. Prace zostały opublikowane w latach 2015-2017. Są one cytowane od 0-9 razy (łącznie 16 razy; na podstawie danych z Web of Science, z dnia 2018-05-18). Wymienione surowe dane bibliometryczne świadczą o wysokiej jakości naukowej wykonanych badań, a także o istotności poruszanej tematyki, potwierdzonej przez recenzentów i czytelników renomowanych czasopism w których zostały opublikowane.

Rozprawa doktorska „*Dendrymery fosforowe jako nośniki fotouczulaczy stosowanych w terapii fotodynamicznej*” jest więc zbiorem czterech publikacji z wiodącym wkładem doktorantki. Z załączonych oświadczeń wynika, że w przypadku wszystkich publikacji, jej udział to planowanie i wykonywanie doświadczeń, a także analiza i interpretacja wyników oraz przygotowywanie manuskryptów. Zakres wkładu mgr Moniki Dąbrzalskiej został oceniony przez samą doktorantkę oraz potwierdzony oświadczeniami współautorów na 78% w przypadku publikacji w *International Journal of Pharmaceutics*, 71% w *Molecules* i *Molecular Pharmaceutics* oraz 50% w *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Dane te świadczą o tym, iż doktorantka opanowała umiejętność opracowywania koncepcji badań, ich wykonywania, opracowywania wyników oraz ich krytycznej dyskusji na poziomie



umożliwiającym ich prezentowanie w renomowanych międzynarodowych czasopismach naukowych.

Dendrymery fosforowe, które doktorantka wybrała do swoich badań w celu sprawdzenia ich użyteczności, jako nośników ułatwiających wnikanie fotouczulaczy (rózu bengalskiego i błękitu metylenowego) do komórek nowotworowych w celu poprawy efektywności terapii fotodynamicznej, nie były dotąd badane pod tym kątem. Prezentowany cykl publikacji stanowi więc nowatorski wkład autorki w tą dziedzinę nauki. Autorka wykonała szereg prac umożliwiających wytypowanie i charakterystykę najkorzystniej oddziałujących ze sobą dendrymerów i fotouczulaczy, a następnie oceniła ich aktywność względem komórek nowotworowych *in vitro*.

W pierwszej części badań (opublikowanych w *Int J Pharm*) mgr Monika Dąbrzalska oceniła więc dwa zestawy dendrymer fosforowy : fotouczulacz, mianowicie mieszaniny anionowego dendrymeru drugiej generacji z błękitem metylenowym, którego właściwości badała za pomocą spektroskopii UV-Vis, podczas gdy kationowy dendrymer trzeciej generacji z różem bengalskim badała metodami spektrofluorometrycznymi. Analiza spektroskopowa tych dwóch mieszanin wykazała tworzenie się kompleksów dendrymer fosforowy : fotouczulacz głównie dzięki oddziaływaniom elektrostatycznym oraz umożliwiła oszacowanie stechiometrii kompleksów. W kolejnej publikacji (*Anal Bioanal Chemistry*) doktorantka poszerzyła zakres charakterystyki badanych kompleksów o wykorzystanie spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera, potwierdzając elektrostatyczny charakter oddziaływań oraz wybór kompleksów i ich stosunku stechiometrycznego do dalszych badań.

W kolejnych dwóch publikacjach autorka przedstawiła wyniki badań nad aktywnością biologiczną kompleksów błękitu metylenowego w *Molecules*, a rózu bengalskiego w *Mol Pharm*. Podkreślić należy odpowiedni dobór technik badawczych zastosowanych w tych publikacjach, które umożliwiły wstępną ocenę przydatności wybranych kompleksów w terapii fotodynamicznej, a także trafność wyboru modelowych linii mysich komórek nowotworowych raka podstawnocomórkowego skóry o zróżnicowanej charakterystyce molekularnej. Autorka oceniła więc poziom tlenu singletowego generowanego przez fotouczulacze użyte pojedynczo, oraz w kompleksach z dendrymerami w środowisku wodnym, wnikanie kompleksów do komórek 3 linii nowotworowych raka podstawnocomórkowego skóry (cytometria przepływowa) oraz efekt cytotoksyczny wobec tych samych linii komórkowych w warunkach „ciemnych” oraz po naświetleniu. Ponadto oceniła niektóre parametry śmierci komórek (test z jodkiem propidyny i aneksyną) oraz produkcję wolnych rodników w komórkach traktowanych badanymi kompleksami w porównaniu do samego fotouczulacza. Doktorantka wykazała wyższą skuteczność obu kompleksów w porównaniu do fotouczulacza stosowanego samodzielnie. Ponadto wykazała brak, lub słaby wpływ samych dendrymerów na żywotność komórek czy produkcję wolnych rodników tlenowych. Jedynie w publikacji dotyczącej rózu



bengalskiego dendrymer kationowy w istotny sposób (czy istotny statystycznie?) indukował produkcję tlenu singletowego. Czy przeprowadzono podobne analizy dotyczące dendrymeru anionowego? W dyskusji publikacji i w streszczeniu autorka sugeruje synergizm pomiędzy dendrymerem i różem bengalskim w zdolności do generowania tlenu singletowego? Czy przeprowadzono analizy statystyczne dotyczące rodzaju oddziaływania kompleksu w porównaniu do jego składników zastosowanych pojedynczo (np. metodą Chou-Talalay)? Całość przeprowadzonych badań efektywności biologicznej sugeruje wyższość kompleksu kationowego z różem bengalskim nad kompleksem anionowym z błękitem metylenowym. Szkoda, że autorka nie pokusiła się o przedyskutowanie tego faktu, podanie przyczyn tych różnic.

W prezentowanych publikacjach wyczerpująco przedstawiono zastosowane metody badawcze, uzyskane wyniki, a także przeprowadzono interesujące dyskusje dotyczące każdej z prac. Natomiast przygotowane streszczenie rozprawy doktorskiej, które powinno w sposób syntetyczny i uporządkowany przedstawić omawiane wyniki, jako logiczną całość w moim odczuciu jest trochę niedopracowane. Powinno ono zawierać typowe elementy streszczenia, zaprezentowane w odpowiedniej kolejności: wstęp i cel, metodyka, wyniki, wnioski. W przedstawionym streszczeniu jest to wszystko trochę „przemieszane”. Ostatni z wymienionych w streszczeniu wniosków (sformułowanie „lepszy efekt”), oczywiście ma uzasadnienie w przedstawionych publikacjach, ale nie wynika ze streszczenia (poza wzmianką dotyczącą generowania tlenu singletowego). Drobna uwaga dotyczy także stosowania skrótów, które powinny być rozwinięte przy pierwszym użyciu.

Podsumowując, strona formalna i merytoryczna ocenianej pracy świadczą o bardzo dobrym opanowaniu przez mgr Monikę Dąbrzańską umiejętności pisania prac naukowych i analizy merytorycznej danych, a uzyskane wyniki wnoszą nowe, istotne informacje, na podstawie których możliwe będą dalsze badania nad zastosowaniem dendrymerów fosforowych jako nośników fotouczulaczy w terapii przeciwnowotworowej, a tym samym mogą przyczynić się do poprawy skuteczności tej terapii. Drobne uwagi wymienione powyżej nie wpływają na ostateczną, pozytywną ocenę rozprawy. Podkreślić należy jednocześnie zastosowanie przez autorkę różnorodnych technik badawczych, zarówno spektroskopowych, jak i z zakresu biologii komórki.

Doktorantka udowodniła ponadto decydujący wkład w przygotowaniu pracy doktorskiej, w tym w opracowaniu oryginalnej koncepcji badań, określeniu zakresu badań, postawieniu hipotez, przy odpowiednim udziale promotorów. Wykazała także decydujący udział w samodzielnym planowaniu i wykonaniu znaczącej części eksperymentów oraz interpretacji ich wyników i przygotowaniu publikacji do druku przy niewielkim, w większości publikacji udziale pozostałych współautorów.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Moniki Dąbrzałskiej pt. „*Dendrymery fosforowe jako nośniki fotouczulaczy stosowanych w terapii fotodynamicznej*”



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71
www.iitd.pan.wroc.pl

spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie 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.), tym samym wnioskuję do Rady Naukowej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Pani mgr Moniki Dąbrzalskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie ze względu na wysoką wartość merytoryczną uzyskanych wyników i ich opublikowanie w 4 renomowanych czasopismach składam wnioszek o wyróżnienie rozprawy.

Wrocław, 18 maja 2018.

Doc. dr hab. Joanna Wietrzyk
Kierownik Laboratorium
Doświadczalnej Terapii Przewodowej

dr hab. Joanna Wietrzyk