



KATEDRA
BIOFIZYKI

Lublin, 10 stycznia 2020 r.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki
Katedra Biofizyki, Instytut Fizyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

Ocena rozprawy doktorskiej mgr. inż. Michała Gorzkiewicza pt. „Dendrymery polipropylenoiminowe jako nośniki przeciwnowotworowych nukleotydów adenozytowych”

Powszechnie akceptowaną wydaje się dziś teza, zgodnie z którą dynamiczny postęp w obszarze medycyny, którego jesteśmy świadkami na przestrzeni ostatnich lat, wiąże się, przede wszystkim, z postępem w dziedzinie nauk przyrodniczych. Wyniki aktywności naukowej w tym obszarze przekładają się, niemalże bezpośrednio, na nowoczesne techniki diagnostyki medycznej oraz warunkują postęp w obszarze związanym z opracowaniem inteligentnych nośników substancji o znaczeniu farmakologicznym. Od nośników takich oczekuje się, przede wszystkim, braku negatywnych efektów biologicznych oraz zdolności uwalniania substancji aktywnych w dedykowanych kompartmentach organizmu, a nawet komórek. Cykl badań

wykonanych przez pana mgr. inż. Michała Gorzkiewicza oraz zaprezentowanych w ramach jego rozprawy doktorskiej wiąże się ściśle z tym obszarem aktywności naukowo-badawczej. W ramach projektu doktorskiego, badane były struktury dendrymerów polipropylenoiminowych (PPI) w aspekcie ich zastosowania jako nośników nukleotydów adenozytowych o właściwościach przeciwnowotworowych. W mojej ocenie, tematyka rozprawy doktorskiej jest nie tylko wysoce nośna, z naukowego punktu widzenia, ale również interesująca oraz ważna, z uwagi na potencjalne zastosowania terapeutyczne.

Praca doktorska przygotowana została pod kierunkiem pani prof. Barbary Klajnert-Maculewicz, w Katedrze Biofizyki Ogólnej na Wydziale Biologii i Ochrony środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, w renomowanym ośrodku wyznaczającym granice światowego postępu w obszarze farmakochemii nośników dendrymerowych. Rozprawa doktorska przedstawiona została jako zestawienie pięciu artykułów opublikowanych w indeksowanych czasopismach międzynarodowych: jednej pracy przeglądowej oraz czterech oryginalnych artykułów badawczych. Lektura oświadczeń wszystkich autorów tych artykułów, w tym również mgr. Michała Gorzkiewicza, zamieszczonych w końcowej części rozprawy, prowadzi do jednoznacznej konkluzji o zasadniczej roli Doktoranta, zarówno w uzyskaniu prezentowanych wyników jak i w procesie ich interpretacji i formułowania wniosków. Prezentację poszczególnych artykułów, w ramach rozprawy, poprzedza dedykowana jej część opisowa, zatytułowana „Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników”. Lektura tej części stanowi szybkie i „zgrabne” wprowadzenie w tematykę badawczą rozprawy, w kontekście aktualnych i otwartych problemów badawczych w tym obszarze. W ramach rozdziału tego sformułowana została hipoteza badawcza, centralna dla rozprawy, według której dendrymery polipropylenoiminowe mogą służyć jako efektywne nośniki trójfosforanowych form nukleotydów terapeutycznych do wnętrza komórek, pokonując bariery związane z mechanizmami oporności. Analiza rozdziału wstępnego stwarza również możliwość wglądu w podejścia metodologiczne oraz techniki badawcze stosowane w ramach realizacji projektu doktorskiego. W celu pełnej

realizacji zaplanowanych zadań badawczych wykorzystany został bogaty arsenał metod i technik, wśród których znalazły się, izotermiczne miareczkowanie kalorymetryczne (ICT), stosowane między innymi do analizy formowania kompleksów nośników z ATP, oznaczenia cytotoksyczności na modelowych ludzkich liniach komórkowych, technika RT-PCR, stosowana do oznaczania ekspresji na poziomie RNA transporterów nukleozydów, fluorescencyjna mikroskopia konfokalna i spektrofotometryczne testy płytkowe do analizy zaburzeń homeostazy komórkowej, monitorowanie aktywności fizjologicznej wyselekcjonowanych transporterów na drodze pomiarów radioaktywności znakowanych izotopowo substratów, technika powierzchniowego rezonansu plazmonowego (SPR), zastosowana do analizy formowania kompleksów fludarabiny oraz klofarabiny (w formie nukleozydów oraz trójfosforanów) z dendrymerami, pomiar potencjału zeta w ocenach powierzchniowego potencjału elektrostatycznego kompleksów fludarabiny i klofarabiny w formie trójfosforanów z dendrymerami oraz ultrafiltracja i frakcjonowanie przepływowe w asymetrycznym polu sił w analizach stabilności formowanych kompleksów. Wnikliwe analizy realizacji poszczególnych zadań badawczych, prezentowanych w ramach zestawionych artykułów, wskazują jednoznacznie na proces doboru właściwych technik badawczych, umożliwiających rozwiązanie formułowanych problemów poznawczych. Biorąc pod uwagę, szeroki wachlarz stosowanych podejść metodologicznych i technik badawczych, podejście takie jest w mojej ocenie nie tylko właściwe ale nawet wzorcowe. W ramach części wstępnej zaprezentowane zostały również streszczenia w języku polskim oraz angielskim, czyniące zadość wymogom formalnym. Jako końcowa część opisu, w ramach rozprawy zamieszczony został wykaz dorobku naukowego Doktoranta, poza rozprawą. Obejmuje on stosunkowo długą, liczącą 12 pozycji, listę publikacji, wskazującą na to, iż erudycja oraz umiejętności Doktoranta formowały się w znacznej liczbie zbliżonych tematycznie projektów badawczych. Ponadto, Doktorant jest współautorem zgłoszenia patentowego, 2. rozdziałów w wydawnictwach monograficznych oraz licznych doniesień konferencyjnych. Prezentację artykułów, na których osadzona została

rozprawa doktorska, rozpoczyna stosunkowo-obszerna, a zarazem elegancka i klarowna praca przeglądowa zatytułowana „Dendrimers as nanocarriers for nucleoside analogues”, opublikowana w European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. Praca ta stanowi, moim zdaniem, bardzo cenną pozycję literaturową, która może być polecana specjalistom, ale również, ze względu na przejrzysty układ oraz przystępną prezentację zaawansowanych zagadnień, również szerokiemu gronu odbiorców. Najważniejszą częścią rozprawy doktorskiej, stanowiącej o jej wysokim poziomie merytorycznym, są oryginalne wyniki eksperymentalne przedstawione oraz poddane dyskusji w kolejnych 4. artykułach. W gronie najważniejszych wniosków wynikających z realizacji projektu doktorskiego i wyartykułowanych w poszczególnych pracach oryginalnych, wymienić mógłbym następujące:

1. Określenie szczegółowych warunków formowania stabilnych kompleksów dendrymerów PPI (w tym również glikodendrymerów typu „open shell”) z nukleotydami adenozynowymi oraz wyjaśnienie mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za stabilizację tego typu kompleksów (niekowalencyjne oddziaływania pomiędzy resztami fosforanowymi nukleotydów i powierzchniowymi grupami aminowymi dendrymerów).
2. Wykazanie iż, częściowa modyfikacja powierzchni dendrymerów PPI 4. generacji maltozą (PPI-Mal OS G4) istotnie podnosi ich wartość funkcjonalną jako transporterów dokomórkowych trójfosforanowej formy fludarabiny oraz wyjaśnienie mechanizmów odpowiedzialnych za ten efekt. Wśród mechanizmów tych wymienić można pokonanie oporności wynikającej z obniżonej ekspresji lub aktywności transportera hENT1, dzięki autonomicznej ścieżce wnikania leku do komórki.

Lektura prac oryginalnych, których kopie zamieszczona zostały w ramach rozprawy, wskazuje na bardzo wysoki poziom edytorski i precyzję języka. Zaakcentowana być tu może również poprawność odwoływania się do wyników innych badań w ramach zamieszczanych cytowań. Wobec faktu, iż prace te ogłoszone zostały w różnych czasopismach, walory te przypisać należy raczej autorom, nie zaś jedynie wymagającym edytorom. Recenzja rozprawy doktorskiej jest tradycyjnie miejscem, w którym starsi koledzy/koleżanki doktorantów, występujący w roli recenzentów, mogą przekazać część swojego doświadczenia, w formie uwag i sugestii, młodym adeptom nauki, jakimi są doktoranci. Wpisując się w ten trend, poddać mogę pod rozwagę następujące propozycje:

1. Praca opublikowana w *Biomacromolecules*: str. 358 oraz inne, oś rzędnych na wykresach nazwana została (zresztą zgodnie z powszechnym trendem) „Fluorescence”. Proponuję „Fluorescence intensity”, czyli wielkość fizyczna w miejsce zjawiska.
2. Podobnie w pracy opublikowanej w *Int. Journal of Pharmaceutics* (2018): przy prezentacji krzywych miareczkowania ITC (Fig. 3, Fig. 4), na osi rzędnych podana jest wielkość „kcal/mole of injection”. Podzielam zdanie, iż prezentacja taka jest w pełni jednoznaczna i intuicyjna, chociaż zaproponować można również, na przykład „Heat [kcal/mole of injection]”.
3. Str. 15. części wstępnej, 15. wiersz od góry: proponuję „Tym” w miejsce „Ty”.

Konkluzja

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pan mgr inż. Michał Gorzkiewicz przedstawił bardzo wartościową rozprawę doktorską, opierającą się na wynikach pieczołowicie zaplanowanych oraz precyzyjnie przeprowadzonych badań eksperymentalnych. Badania te wymagały swobodnego „poruszania się” w ramach wielu podejść metodologicznych oraz biegłego władania znaczną liczbą

zaawansowanych, a zarazem nowoczesnych technik instrumentalnych. Rozprawa doktorska opiera się na oryginalnych wynikach prac doświadczalnych oraz analiz, ogłoszonych już w czterech artykułach opublikowanych w renomowanych, międzynarodowych czasopismach specjalistycznych. Ponadto, inherentną część rozprawy stanowi obszerna i bardzo wartościowa praca przeglądowa, wskazująca na erudycję Doktoranta oraz będąca miarą Jego dojrzałości naukowej. Moim zdaniem, oceniana rozprawa doktorska zawiera rozwiązania ważnych i interesujących problemów naukowych, spełniając podstawowe wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich. Rozprawa opiera się na hipotezie badawczej i zawiera szereg wyników w pełni uwiarygadniających prawidłowość obranych kierunków oraz założeń. W mojej ocenie, rozprawa doktorska przedstawiona przez mgr. Michała Gorzkiewicza spełnia w zupełności warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Uprzejmie wnoszę o dopuszczenie mgr. inż. Michała Gorzkiewicza do dalszych etapów postępowania doktorskiego, w szczególności do publicznej obrony. Gratulując Doktorantowi oraz Pani Promotor tak cennych rezultatów, uprzejmie wnoszę również do Wysokiej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o rozważenie możliwości uznania przedmiotowej rozprawy doktorskiej za wyróżniającą.

