



KATEDRA
BIOFIZYKI

Lublin, 30 sierpnia 2022 r.

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

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr. Krzysztofa Sztandery
pt. „Nanonośniki rózu bengalskiego w terapii fotodynamicznej raka
podstawnokomórkowego skóry”**

Choroby nowotworowe stanowią jedną z głównych przyczyn przedwczesnych zgonów w społeczeństwach rozwiniętych. Fakt ten sprawia, iż diagnoza oraz terapia raka staje się jednym z najbardziej aktualnych, a nawet pilnych wyzwań kierowanych pod adresem środowiska naukowego. Problematyka terapii fotodynamicznej raka skóry, jednego z najczęściej występujących u ludzi nowotworów, dedykowana jest rozprawa doktorska pana mgr. Krzysztofa Sztandery. Waga podejmowanych zadań badawczych, w świetle zaakcentowanych powyżej problemów, czyni przedstawianą rozprawę doktorską niezwykle interesującą oraz aktualną.

Praca doktorska wykonana została pod kierunkiem prof. Barbary Klajnert-Maculewicz, przy współudziale dr. Michała Gorzkiewicza w charakterze promotora pomocniczego, w Katedrze Biofizyki Ogólnej Instytutu Biofizyki Uniwersytetu

Łódzkiego. Podstawę rozprawy doktorskiej stanowią wyniki prac badawczych zamieszczone w czterech oryginalnych artykułach opublikowanych w międzynarodowych czasopismach specjalistycznych oraz zestawienia i przemyślenia zawarte w obszernej pracy przeglądowej opublikowanej wraz z promotorami doktoratu w *Willey Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanotechnology*. We wszystkich pięciu pracach mgr Krzysztof Sztandara występuje na liście autorów na pierwszej pozycji. Analiza dołączonych do rozprawy oświadczeń Doktoranta oraz współautorów artykułów, dotyczących indywidualnego wkładu merytorycznego, pozwalają jednoznacznie wnioskować o Jego znaczącym udziale w uzyskaniu wyników, w pełni uzasadniając wykorzystanie zestawionych prac jako podstawy osiągnięcia naukowego jakim jest praca doktorska. Przedmiotowa rozprawa doktorska zredagowana został w oparciu o strukturę, w ramach której pierwszą część stanowią przygotowane w języku polskim opisy wprowadzające w tematykę podjętych badań, zawierające w szczególności: sformułowane cele i hipotezę badawczą, zarysowaną skrótowo metodykę badań oraz zwięzłe omówienie uzyskanych wyników. Tę część rozprawy zamykają podsumowanie rezultatów i wnioski, które zdaniem Doktoranta stanowią o wartości merytorycznej projektu doktorskiego. Drugą integralną część rozprawy stanowią zamieszczone przedruki pięciu oryginalnych, opublikowanych w języku angielskim artykułów. W pełni podzielam zdanie Doktoranta, iż jednym z najważniejszych wyzwań poznawczych związanych z terapią fotodynamiczną są nie tyle poszukiwania ukierunkowane na nowe barwniki (bo te w naszym arsenale fotouczulaczy mamy liczne oraz bardzo wydajne), ale nośniki charakteryzujące się wysokim stopniem wiązania barwników do terapii fotodynamicznej, wysokim stopniem wnikania do komórek, niską cytotoksycznością oraz specyficznym wiązaniem z komórkami nowotworowymi. Zadania badawcze zaprojektowane w ramach projektu doktorskiego mgr. Krzysztofa Sztandery zrealizowane zostały dokładnie z uwzględnieniem tych oczekiwań. Uzyskane rezultaty wskazały, iż nośnikiem rózu bengalskiego jako skutecznego fotouczulacza stosowanego w terapii fotodynamicznej komórek raka podstawnokomórkowego skóry,

są dendrymersomy zbudowane z dendronów triazynowo-karbokrzemowych, generacji drugiej oraz trzeciej. W moim odczuciu, jest to doniosły wynik naukowy, kształtujący trendy przyszłych poszukiwań w obszarze najbardziej skutecznych nośników molekuł aktywnych w terapii fotodynamicznej!

Rozprawa doktorska pana mgr. Krzysztofa Szandery, jako opracowanie niezwykle wartościowe i obszerne, otwiera również wiele wątków i pytań, w tym dotyczących stosowanych metod badawczych. Poniżej pozwolę sobie sformułować niektóre z nich.

1. Bardzo interesujące, choć nie do końca zrozumiałe są, moim zdaniem, efekty spektralne towarzyszące wiązaniu cząsteczek różu bengalskiego ze strukturami dendrymerów. Efekty te wykorzystane zostały w ramach pracy doktorskiej do monitorowania formowania kompleksów barwnik-nośnik. Widma emisji fluorescencji różu bengalskiego zmieniają swoją intensywność oraz ulegają przesunięciu batochromowemu. W pełni podzielam wyrażany w rozprawie pogląd, iż jest to efekt złożony, związany ze zmianą polarności otoczenia fluoroforów oraz możliwej agregacji cząsteczek barwnika. Wskazuje na to brak wyraźnego punktu izobestycznego w widmach rejestrowanych w trakcie miareczkowania. Zastanawiam się, czy przesunięcie maksimum emisji z 564 nm do 575 nm związane być może ze specyficznym formowaniem struktur dimerycznych, przy nieobecności wyższych form zagregowanych? Wskazywałby na to brak form spektralnych charakteryzujących się innymi przesunięciami. Myślę, że równoległa analiza widm absorpcyjnych w obszarze krótkofalowym mogłaby przyczynić się do rozwikłania tej zagadki. Ciekaw jestem jakie jest zdanie Doktoranta w tym zakresie?

2. W przypadku analiz związanych z obrazowaniem mikroskopowym, w ramach rozprawy konsekwentnie stosowane jest określenie „mikroskopia konfokalna”. Zamieszczone w artykułach oryginalne mikrogramy oraz zestawy zastosowanych sond pozwalają domyślać się, iż chodzi o konfokalną mikroskopię fluorescencyjną. Ciekaw jestem czy analizy mikroskopowe wskazujące na lokalizację różu bengalskiego oraz różnych substruktur komórkowych prowadzone były z zastosowaniem jednej czy wielu linii laserowych? Jakie były okna rejestracji emisji dla różnych barwników?

3. Wysoce interesującym wydaje mi się przebieg zależności wydajności generowania tlenu singletowego w funkcji stężenia różu bengalskiego (np. Fig. 3 w pracy ogłoszonej w J. Med. Chem. 2022). Zależność ta wykazuje charakter krzywej reprezentującej efekt nasycenia. Czy może to oznaczać, iż przy wyższych stężeniach fotouczulacza jego cząsteczki ulegają autooksydacji, w warunkach znacznego stężenia tlenu singletowego? Czy możliwe jest również, iż wkraczamy w obszar stężeń tlenu singletowego, w którym sondy molekularne wrażliwe na jego stężenie tracą linearność, na przykład na skutek degradacji oksydacyjnej?

Konkluzja

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pan mgr Krzysztof Sztandera przedstawił bardzo wartościową rozprawę doktorską, opierającą się na wynikach zaprojektowanych z wizją oraz przeprowadzonych precyzyjnie zadań badawczych. Badania te wymagały wiedzy i umiejętności praktycznych w zakresie preparatyki biochemicznej, prowadzenia hodowli komórkowych oraz analiz spektroskopowych,

w szczególności w zakresie spektroskopii fluorescencyjnej. Wyniki uzyskane w ramach realizacji projektu doktorskiego rozpowszechnione zostały i przedyskutowane w pięciu artykułach, które ukazały się w bardzo dobrych, międzynarodowych czasopismach specjalistycznych.

Moim zdaniem, przedstawiona przez mgr. Krzysztofa Sztanderę rozprawa doktorska zawiera rozwiązania aktualnych, ważnych i interesujących problemów naukowych, wnosi do nauki światowej znaczący postęp, spełniając tym samym wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich, czyniąc zadość warunkom określonym w art. 187. Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r., poz. 478 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym, uprzejmie wnoszę o dopuszczenie mgr. Krzysztofa Sztanderę do dalszych etapów postępowania doktorskiego, w szczególności do publicznej obrony.

Wielość uzyskanych wyników naukowych oraz, przede wszystkim ich ranga poznawcza skłania mnie również do wnioskowania o uznanie przedmiotowej rozprawy doktorskiej jako wyróżniającej.

W. Czumań