

Prof. dr hab. inż. Krystyna Dzierzbicka
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
Katedra Chemii Organicznej
ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk
tel. (058) 347-20-54
e-mail: krydzier@pg.edu.pl



Gdańsk, 25.11.2020

Recenzja rozprawy doktorskiej

Karola Pawła Steckiewicza

pt. „Wpływ modyfikacji mikrocząstek i nanocząstek na ich aktywność cytotoksyczną i właściwości przeciwbakteryjne w badaniach *in vitro*”

Promotor: prof. dr hab. Iwona Inkielewicz-Stępniaik

Problematyka badań podjęta przez Pana Karola Steckiewicza dotycząca oceny wpływu kształtu, rozmiaru, funkcjonalizacji nanocząstek i mikrocząstek na ich właściwości biologiczne: cytotoksyczność i aktywność przeciwdrobnoustrojową w badaniach *in vitro*, wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Medycznej GUMed pod promotorstwem prof. dr hab. Iwony Inkielewicz-Stępniaik, jest jak najbardziej aktualna i potrzebna biorąc pod uwagę szeroki zakres możliwości ich zastosowania, w tym w opracowywaniu nowoczesnych metod terapii nowotworowej.

Praca doktorska została przygotowana w formie zbioru czterech wieloautorskich publikacji (1 przeglądowej i 3 oryginalnych), w których Doktorant jest pierwszym autorem.

Artykuły ukazały się w dobrych czasopismach zamieszczonych w JCR w latach 2019-2020 (wyszczególnionych na str. 8): *Nanomaterials* (IF 4,324, Q2, 70 pkt), *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* (IF 2,489, Q2/Q3, 70 pkt), *International Journal of Medical Sciences* (IF 2,523, Q2, 100 pkt), *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (5,076, Q2, 100 pkt).

Doktorant zamieścił sumaryczny współczynnik oddziaływania *Impact Factor* (IF) wynoszący 14,412 oraz łączną punktację MNiSW równą 340.

Do pracy zostały dołączone oświadczenia współautorów z zaznaczeniem ich udziału w zamieszczonych publikacjach, które jednoznacznie wskazują na wiodącą rolę Doktoranta

zarówno w opracowywaniu koncepcji, jak i wykonaniu badań eksperymentalnych, interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu prac stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. W publikacjach eksperymentalnych udział Doktoranta został oceniony na poziomie 50% (*J Mater Sci Mater Med*) oraz 55% (*Int J Med Sci, Oxid Med Cell Longev*), natomiast w publikacji przeglądowej nie jest on wyszczególniony. *Dlaczego?*

Publikacje zostały już ocenione przez niezależnych ekspertów z danej dziedziny, zaakceptowane do druku i opublikowane.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska liczy 58 stron, zawiera wykaz stosowanych skrótów i streszczenie pracy zarówno w języku polskim (str. 9-30), jak i angielskim (str. 31-51), cytowane piśmiennictwo obejmujące 72 pozycje literaturowe (z czego ok. 80% to prace opublikowane w ostatnim dziesięcioleciu, str. 52-58), cztery załączone publikacje oraz oświadczenia współautorów. Konstrukcja jest typowa dla nowoczesnych rozpraw doktorskich bazujących na wynikach badań już opublikowanych. Praca składa się z rozdziałów, w których Doktorant opisuje: wprowadzenie / introduction (str./p. 13-18/34-39), cel pracy / aim of the study (str./p. 19/40), materiały i metody / materials and methods (str./p. 20-21/41-42), omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej / description of the publications included in the doctoral thesis (str./p. 22-28/43-49), podsumowanie / conclusion (str./p. 29-30/51-52) oraz piśmiennictwo / bibliography (str./p. 52-58).

Każda z omówionych publikacji kończy się krótkim podsumowaniem i wnioskami.

W części zatytułowanej *Wprowadzenie* Doktorant w „telegraficznym” skrócie wprowadził czytelnika w rozwój nanotechnologii, zaprezentował zastosowanie mikrocząstek (MPs) i nanocząstek (NPs) (Ryc. 1, str. 14), w tym potencjalne w naukach biomedycznych (Ryc. 2, str. 15), wybrane mechanizmy cytotoksyczności MPs i NPs na poziomie komórkowym i molekularnym (Ryc. 3, str. 16) oraz czynniki wpływające na ich właściwości biologiczne (Ryc. 4, str. 17). Podsumowując ten fragment pracy Doktorant słusznie zauważył, iż dane literaturowe nie pozwalają jednoznacznie ocenić wpływu modyfikacji MPs i NPs na ich właściwości biologiczne, zatem kontynuowanie badań w tym zakresie jest uzasadnione i konieczne. Trzeba zaznaczyć, że bogaty materiał literaturowy dotyczący rozwoju oraz współczesnych zastosowań nanotechnologii Doktorant zamieścił w pracy przeglądowej (*Nanomaterials, 2020*). Szczegółowo opisał potencjalną rolę NPs w leczeniu nowotworów kości oraz problem zakażeń w ortopedii związany z wprowadzaniem implantu. Zwrócił uwagę na niezwykle istotne zagadnienie jakim jest bezpieczeństwo stosowania klinicznego nanocząstek. Omówił ich cytotoksyczność względem nietransformowanych nowotworowo linii komórkowych kości i porównał z toksycznością stosowanych leków. Opisał czynniki modyfikujące właściwości farmakologiczne i toksykologiczne NPs (np. rodzaj, kształt, stężenie, czas inkubacji, pH środowiska, funkcjonalizacja, rodzaj substancji stabilizujących) oraz NPs dopuszczone do stosowania w medycynie.

Jak Pan myśli dlaczego tak mało potencjalnych leków opartych na mikrocząstkach czy nanocząstkach znajduje się w badaniach klinicznych?

Czy inne, oprócz wymienionych w pracy, zagrożenia dostrzega Pan w zastosowaniu nanocząstek i mikrocząstek w terapii przeciwnowotworowej?

W badaniach eksperymentalnych Doktorant ocenił wpływ nanocząstek złota (AuNPs) w różnych kształtach (gwiazdy, pręty, sfery) na ich cytotoksyczność względem komórek kostniakomięsaka, najczęstszego nowotworu złośliwego kości u dzieci oraz nietransformowanej nowotworowo linii komórkowej ludzkich osteoblastów (hFOB1.19). Wykazał, że AuNPs w kształcie gwiazd posiadają największy potencjał przeciwnowotworowy, a sferyczne AuNPs najlepszy profil bezpieczeństwa w badaniach *in vitro* (*J Mater Sci Mater Med*, 2019). *Czy ich rozmiar też brano pod uwagę?*

Dlaczego kształt mikrocząstek i nanocząstek odgrywa tak ważną rolę w aktywności przeciwnowotworowej?

W kolejnych badaniach (*Int J Med Sci*, 2020) Doktorant dokonał oceny sferycznych AuNPs stabilizowanych glutationem (GSH) jako nośnika chemioterapeutyków (doksorubicyny, cytarabiny czy gemcytabiny) na modelach komórkowych: kostniakomięsaka, nowotworu trzustki i nowotworu piersi oraz na liniach komórkowych nietransformowanych nowotworowo. Wykazał, że właściwości AuNPs jako nośnika zależą od stabilizacji GSH i rodzaju wprowadzanego chemioterapeutyku.

Czym się sugerowano przy wyborze glutationu do stabilizacji badanych nanocząstek złota? Na czym polega jego rola?

Czy widzi Pan racjonalne uzasadnienie do powtórzenia opisanych badań z wykorzystaniem nanocząstek złota o innych kształtach (np. gwiazd) lub rozmiarze?

Doktorant zbadał również (*Oxid Med Cell Longev*, 2019) wpływ kształtu MPs fosforanu (V) srebra (sferyczne, sześciennie, czworościenne, dwunastościenne, rozgałęzione, tetrapodalne) na ich właściwości przeciwdrobnoustrojowe oraz cytotoksyczne, ze szczególnym uwzględnieniem komórek kości. Oceniał, że sferyczne MPs fosforanu (V) srebra wykazują najkorzystniejsze właściwości przeciwdrobnoustrojowe i najlepszy profil bezpieczeństwa w badaniach *in vitro*.

Czy Pana zdaniem nanocząstki i mikrocząstki wykazujące aktywność przeciwbakteryjną mogą stanowić zagrożenie dla środowiska naturalnego?

Wykonanie podjętych przez Doktoranta i opisanych w załączonych publikacjach zadań wymagało dobrania właściwej metodyki prowadzonych prac eksperymentalnych obejmujących: badanie cytotoksyczności, ocenę internalizacji MPs i NPs oraz indukowanie zmian na poziomie ultrastruktury komórki, ocenę poziomu wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu, analizę cyklu komórkowego, oznaczenie całkowitego poziomu białka, badanie poziomu wybranych białek oraz analizę statystyczną.

Należy podkreślić, że zaprezentowane badania mają charakter interdyscyplinarny (synteza – aktywność biologiczna), a to wymagało umiejętności w nawiązaniu współpracy z innymi zespołami naukowymi w zakresie syntezy czy charakterystyki fizykochemicznej badanych struktur: zespołem prof. Adriany Zaleskiej-Medyńskiej z Uniwersytetu Gdańskiego oraz zespołem dr Michała Wójcika z Uniwersytetu Warszawskiego.

Wnioski zamieszczone w rozdziale *Podsumowanie* oddają istotę zaprezentowanej rozprawy doktorskiej, w której uzyskane wyniki stanowią oryginalny i pionierski wkład w rozwój nanotechnologii, zasługują one na wysoką ocenę. Zarówno cel główny rozprawy, jak i cele szczegółowe wyszczególnione na str. 19 zostały przez Doktoranta zrealizowane.

Praca została częściowo sfinansowana w ramach grantu „Wspieramy Rozwój” Cedrob SA, którego kierownikiem był pan Karol Steckiewicz.

Do ważnych osiągnięć ocenianej rozprawy doktorskiej zaliczam:

- badania pionierskie dotyczące: oceny wpływu kształtu nanocząstek złota na ich cytotoksyczność względem linii komórkowych kostniakomięsaka; oceny oddziaływania mikrocząstek fosforanu (V) srebra z liniami komórkowymi (kości, mięśni, skóry) w badaniach *in vitro*;
- zbadanie potencjału AuNPs stabilizowanych glutationem jako nośnika wybranych leków przeciwnowotworowych, m.in. cytarabiny (leku stosowanego w leczeniu białaczek, ziarnicy złośliwej oraz chłoniaka nieziarniczego).

Kilka uwag:

- w opisie (str. 25 i 46) przy cytowaniu publikacji brakuje stron
- N- w nazwach związków chemicznych piszemy kursywą

Podsumowując, stwierdzam, że przedłożona do recenzji praca zawiera wiele elementów nowości oraz odpowiedni dorobek naukowy obejmujący cykl czterech publikacji i spełnia wymagania ustawowe stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r., poz. 85 z późn. zm. dlatego wnioskuję do Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie pana Karola Pawła Steckiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej

Badania wchodzące w zakres rozprawy doktorskiej prezentują wysoki poziom naukowy i znacznie poszerzają stan wiedzy, wnosząc istotny wkład w badanie mikrocząstek i nanocząstek. Rozprawa doktorska zawiera oryginalne osiągnięcia naukowe o dużym znaczeniu poznawczym z szansą na praktyczne wykorzystanie uzyskanych wyników badań. Sposób realizacji postawionych założeń badawczych, zastosowana metodologia oraz interpretacja uzyskanych wyników badań charakteryzują się wysokim poziomem merytorycznym i zostały opublikowane w dobrych czasopismach naukowych dlatego wnioskuję do Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pana Karola Pawła Steckiewicza.

Krystyna Dzierzbicka

