



dr hab. inż. Michał Strankowski, prof. PG
Katedra Technologii Polimerów
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska

Gdańsk, 09.09.2025

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr Patrycji Beldzińskiej, pt. "Wpływ nanocząstek platyny o różnej wielkości na aktywność wybranych leków przeciwnowotworowych".
Promotorem recenzowanej pracy jest dr hab. Jacek Piosik, prof. UG.**

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Pracowni Biofizyki Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, pod kierunkiem dr hab. Jacka Piosika, profesora UG. Przedstawiona rozprawa mgr Patrycji Beldzińskiej podejmuje niezwykle istotną tematykę badawczą związaną z wpływem nanocząstek na aktywność leków przeciwnowotworowych. Podjęte przez Doktorantkę działania niewątpliwie znajdują się w nurcie oryginalnych i aktualnych badań mających na celu zwiększenie skuteczności terapii przeciwnowotworowych.

Podstawą recenzowanej rozprawy doktorskiej mgr Patrycji Beldzińskiej są 2 prace, opublikowane w czasopismach *Chemico-Biological Interactions* oraz *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, jak również Doktorantka dołącza przygotowany manuskrypt (aktualnie recenzowany w czasopiśmie z listy JCR), który tematycznie jest związany z prezentowanymi pracami.

Część wprowadzająca pracy licząca 48 stron napisana jest w języku polskim, natomiast dołączone publikacje naukowe są w języku angielskim. Załączone publikacje (2+1) wraz z oświadczeniami autorów zawarte są na kolejnych 89 stronach. Od strony 140 autorka prezentuje swój dorobek publikacyjny (wraz z pracami, które nie wchodziły w skład przewodu doktorskiego) oraz dodatkową działalność. Całość recenzowanej rozprawy doktorskiej zawarta jest na 144 stronach. Recenzowana praca zawiera 94 odnośniki literaturowe, właściwie dobrane do tematyki poruszanej w rozprawie doktorskiej.

Wprowadzenie do zawartych w rozprawie manuskryptów jest dość starannie napisane, zarówno pod względem językowym, jak i edytorskim. Numerowanie rozdziałów oraz rysunków (Doktorantka używa sformułowania rycina) jest poprawne. Jedyne na co zwróciłem uwagę, podczas czytania recenzowanej pracy, to obecność samotnych liter (takich jak: a, i, w, z), które pozostają na końcu wiersza, czy też literówek: s.19 „mikroorganizmów”, s.22 „oddziaływania” oraz niepoprawne spolszczenia: s. 21 „załadowanych doksorubicyną”, s. 22 „nanocząstki złota oraz srebra opłaszczane glikolem polietylenowym”, s.23 „oddziaływania *stekingowe*”.

W pierwszej części rozprawy doktorskiej mgr Patrycja Beldzińska koncentruje się na poszukiwaniu nowych, skuteczniejszych terapii przeciwnowotworowych, szczególnie w kontekście rosnącej liczby zachorowań i ograniczeń obecnych metod leczenia, takich jak chemioterapia. Autorka podkreśla, że statystyki nowotworowe są alarmujące, a dotychczasowe terapie często wiążą się z poważnymi skutkami ubocznymi i problemem lekooporności. Pani Patrycja Beldzińska prezentuje problemy chorób nowotworowych jako jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny. Szczegółowo podaje wartości liczbowe związane z przypadkami chorób nowotworowych oraz prognozy na przyszłe lata. Kolejno opisywana jest chemioterapia, jako jedna z najsukuteczniejszych i najszerzej stosowanych metod leczenia nowotworów. Następnie w rozdziale 1.1.2 Charakterystyka wybranych chemioterapeutyków przeciwnowotworowych, Doktorantka omawia mechanizmy działania trzech wybranych leków, cisplatyny (CDDP), która jest szeroko stosowanym lekiem z grupy cytostatyków alkilujących, ale jej stosowanie wiąże się z poważnymi skutkami ubocznymi, zwłaszcza nefrotoksycznością, czy też opornością lekową. Jako kolejne substancje opisywane są doksorubicyna (DOX) oraz epirubicyna (EPI), związki należące do antracyklin. Autorka prezentuje również ich mechanizmy działania, wpływ na DNA oraz pochodne, które przyczyniają się do uszkodzeń komórek. Podobnie jak w przypadku cisplatyny, Doktorantka opisuje ich działania niepożądane, w tym kardiotoxycznosc (w przypadku DOX), dodatkowo dokonuje także porównania prezentowanych w pracy substancji leczniczych.

Jako Recenzent doceniam, że mgr Patrycja Beldzińska w sposób bardzo syntetyczny przedstawiła charakterystykę, mechanizmy działania i problemy, jakie są związane ze stosowaniem wybranych substancji przeciwnowotworowych. Niemniej jednak uważam, że np. zobrazowanie graficzne mechanizmów działania i wpływu na DNA byłoby właściwym uzupełnieniem zaprezentowanego opisu, który w przejrzysty sposób przedstawiłby zachodzące zmiany w obrębie działania tych związków chemicznych.

Kolejnym istotnym zagadnieniem, opisywanym w recenzowanej pracy doktorskiej jest Nanotechnologia, zaprezentowana w rozdziale 1.2. Autorka przedstawia rys historyczny związany z nanomateriałami oraz przytacza odpowiednie definicje związane z tą grupą materiałów. Na rycinie 3 mgr Patrycja Beldzińska przedstawia klasyfikację nanomateriałów oraz podaje przykłady związków, które można zaklasyfikować do poszczególnych grup. Moim zdaniem podział na materiały organiczne, nieorganiczne oraz węglowe jest jak najbardziej zasadny, jednak w obrębie układów nieorganicznych wyróżniłbym jeszcze szeroko stosowane glinokrzemiany warstwowe (np. montmorylonit). Doktorantka następnie charakteryzuje nanocząstki platyny, które nie tylko wykazują właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze, ale także przeciwnowotworowe. Stąd też wynika duże zainteresowanie systemami dostarczania leków (DDS) na bazie nanocząstek metalicznych, które mogą zwiększać skuteczność terapii, umożliwiając precyzyjne dostarczanie leku do komórek nowotworowych, przy jednoczesnej minimalizacji toksyczności dla zdrowych tkanek, prezentowane przez Doktorantkę w rozdziale 1.2.3. W tym kontekście Pani Patrycja prezentuje również zjawisko Enhanced Permeability and Retention (EPR) odgrywające istotną rolę

w opisywanych systemach. Następnie Autorka przedstawia przykłady systemów opartych o nanocząstki platyny (PtNPs), nanocząstki złota (AuNPs) oraz srebra (AgNPs), które w połączeniu z lekami (np. dokсорubicyną) zwiększają ich cytotoksyczność wobec komórek nowotworowych, jednocześnie chroniąc zdrowe tkanki. Te specyficzne właściwości wynikają z dużej powierzchni właściwej nanostruktur, dlatego też mogą one wchodzić w interakcje z lekami, w sposób odmienny, w porównaniu do makroukładów. W związku z tym Autorka zwraca uwagę, że kluczową rolę, w opisywanych systemach, odgrywa rozmiar nanocząstek (NPs) w kontekście ich skuteczności i toksyczności, gdzie mniejsze nanocząstki mogą lepiej penetrować komórki, ale mogą być bardziej toksyczne, podczas gdy większe mogą zapewniać bardziej kontrolowane uwalnianie leku oraz wykazywać niższą toksyczność.

Po przeprowadzeniu dogłębnej analizy literatury przez Doktorantkę, dotyczącej nanomateriałów oraz ich toksyczności wobec komórek, Autorka wskazuje, że w analizowanym obszarze badawczym brakuje doniesień opisujących, czy rozmiar nanocząstek odgrywa znaczenie, w odniesieniu do modulacji wydajności związków biologicznie czynnych.

Dlatego też jako cel pracy mgr Patrycja Beldzińska obrała badania różnych rozmiarów nanocząstek platyny (PtNPs) i ich wpływ na aktywność biologiczną leków przeciwnowotworowych, takich jak: cisplatyna (CDDP), dokсорubicyna (DOX) oraz epirubicyna (EPI). Doktorantka określiła także cele szczegółowe związane z analizą dyspersji nanocząstek platyny oraz ich wpływem na wybrane leki przeciwnowotworowe, badaniem termodynamiki oddziaływań pomiędzy tymi układami, oceną wpływu nanocząstek na właściwości fluorescencyjne antracyklin, aktywnością mutagenną, analizą cytotoksyczności wobec wyselekcjonowanych linii komórkowych oraz charakterystyką morfologiczną analizowanych systemów.

Opis uzyskanych wyników badań jest zaprezentowany w pracy, w postaci załączonych 3 publikacji wraz informacjami dotyczącymi wkładu własnego Doktorantki, związanego z przygotowaniem poszczególnych prac badawczych.

Pani Patrycja Beldzińska jest pierwszym autorem pracy pt. „Platyna jako lek oraz jego modulator – czy nanocząstki platyny wpływają na aktywność cisplatyny?”, natomiast autorem korespondencyjnym jest promotor recenzowanej pracy, dr hab. Jacek Piosik. Autorka wykorzystwała pochodną platyny z grupy cytostatyków alkilujących wraz z komercyjnymi nanocząstkami platyny o rozmiarach 5 nm i 50 nm. Przy użyciu nowoczesnych technik badawczych (DSL i AFM) przeprowadziła badania agregacji nanocząstek platyny pod wpływem cisplatyny. Analizując morfologię nanocząstek w matrycy (materiale badawczym) istotne znaczenie ma niewątpliwie sposób przygotowania próbek. W opublikowanej pracy, w rozdziale 2.1. Materials, Doktorantka dość skrótowo opisuje, jak przygotowywano materiały do badań. Jaki zatem wpływ na wyniki badań miały procedury związane z przygotowaniem próbek?

Do analizy cisplatyny z nanocząstkami (Pt) doktorantka wykorzystała różnicową kalorymetrię skaningową (DSC), w celu określenia struktury krystalicznej/amorficznej związku oraz ewentualnego wpływu nanocząstek na zmiany strukturalne. Obserwowalny pik w okolicach 280°C jest związany z topnieniem i degradacją związku (cisplatyny). Dlaczego doktorantka nie prowadziła pomiarów w wyższej temperaturze, dla pełnego zobrazowania przebiegu ogrzewania? Dodatkowo sądzę, że analizę wpływu nanocząstek na cisplatynę wzbogaciłyby analizy z wykorzystaniem metody termogravimetrycznej (TGA), jak również istotnych informacji dostarczyłaby analiza dyfrakcyjna (XRD), przy użyciu której można określić wpływ na krystaliczność aktywnego związku, jakim jest cisplatyna. Na stronie 31 doktorantka opisuje wyniki uzyskane w publikacji nr 1, świadczące o tym, że „wyniki skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) wykazały zmiany termiczne potwierdzające modyfikacje strukturalne wynikające z tworzenia agregatów.” Nasuwa się pytanie, jakie modyfikacje w obrębie struktury cisplatyny nastąpiły? Autorka stwierdza także, na stronie 32 pracy, że wyniki agregacji PtNPs pod wpływem cisplatyny nie są jednoznaczne. Rozumiem, że w kontekście tendencji do agregowania a nie wpływu na aktywność biologiczną.

Jednym z istotniejszych elementów związanych z analizą nanocząstek platyny i jej wpływu na aktywność cisplatyny były testy mutagenności z wykorzystaniem wybranych szczepów bakterii. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania wskazywały na zależność wpływu nanocząstek platyny wynikającą ze stężenia wprowadzonych PtNPs oraz niewielki wzrost efektów cytotoksycznych, w przypadku wybranych przez mgr Patrycję Bełdzińską, dwóch linii nowotworowych raka piersi [MDA-MB-231 i SKBR3 (HER2+)].

Pani mgr Patrycja Bełdzińska w kolejnej publikacji (nr 2) opisuje wpływ rozmiaru nanocząstek platyny (5 – 70 nm) na aktywność, innego związku, antybiotyku – doksorubicyny, należącego do grupy antracyklin. Autorka badała stosowane nanocząstki PtNPs na właściwości fluorescencyjne doksorubicyny z wykorzystaniem spektroskopii fluorescencyjnej. Opisany został efekt związany z rozmiarem nanocząstek i ich wpływem na zarejestrowany poziom fluorescencji. Dla różnych rozmiarów nanocząstek (5, 30, 50, 70 nm) autorka zaobserwowała wygaszanie fluorescencji użytej substancji, w porównaniu do pomiarów kontrolnych. Potwierdzona interakcja między nanocząstkami platyny a doksorubicyną analizowana była również w kontekście wpływu PtNPs na aktywność biologiczną użytej substancji. Autorka zarejestrowała z wykorzystaniem izotermicznej kalorymetrii miareczkowej (ITC), zmiany wartości entalpii wykonane dla doksorubicyny, związane z wprowadzeniem do układu, różniących się rozmiarem, nanocząstek platyny. Dlatego też pojawia się pytanie związane z użytym buforem oraz procesem mieszania, które mogły mieć wpływ na uzyskane wartości entalpii.

Zastosowanie przez Doktorantkę nowoczesnych metod dynamicznego rozpraszania światła (DLS) oraz mikroskopii sił atomowych (AFM) pozwoliło scharakteryzować zachowanie nanocząstek platyny, w różnych środowiskach pomiaru, co uważam za niezwykle istotny element opublikowanej pracy. Oprócz badań fizykochemicznych mgr Patrycja Bełdzińska dokonała istotnej analizy biologicznej

układów PtNPs z doksorubicyną (DOX). Autorka potwierdziła, że nanocząstki platyny obniżają aktywność mutagenną leku wobec wybranych bakterii oraz wykorzystanie PtNPs o średnicy 70 nm wyraźnie wpłynęło na obniżenie przeżywalności komórek nowotworowych.

Podsumowując ocenianą pracę pojawia się dość istotne pytanie natury ogólnej: jaki wpływ ma obecność nanocząstek metali, w organizmie człowieka, na jego funkcjonowanie?

W manuskrypcie (nr 3), stanowiącym kolejną część rozprawy doktorskiej mgr Patrycji Beldzińskiej, analizowane są nanocząstki platyny, które oddziałują z epirubicyną (EPI), zależnie od ich rozmiaru i wpływu na aktywność biologiczną. Również w tym przypadku nastąpiło wygaszenie fluorescencji pod wpływem nanocząstek platyny, gdzie Autorka opisała obserwowalne zmiany w zależności średnicy PtNPs. Efekty oddziaływań leku (EPI) z nanocząstkami badane były także z wykorzystaniem techniki FTIR. Proszę Doktorantkę o wyjaśnienie, w jaki sposób kontrolowane było stężenie substancji czynnej podczas przygotowywania próbek do badań oraz jaki był wpływ tego parametru na intensywność analizowanych pasm (Rysunek 2)?

W kolejnej części pracy Doktorantka wykorzystuje jedną z metod analizy termicznej (DSC) do charakterystyki oddziaływań nanocząstek z substancją czynną. Analizując krzywe termiczne przedstawione na rysunku 3(I), nieoczywista jest procedura wyznaczenia temperatur zeszklenia (T_g) oraz wartości entalpii przemian. Dodatkowo, jaki wpływ na uzyskane wartości T_g ma woda obecna po procesie liofilizacji? Zastanawiające jest także w jaki sposób prowadzone były linie bazowe, dlaczego wartości temperatur podane są z taką dokładnością (do drugiego miejsca po przecinku), skoro kalibracji urządzenia dokonano z wykorzystaniem indu, z ilu punktów była wykreślona krzywa kalibracyjna i co najważniejsze, ile pomiarów realizowano w celu scharakteryzowania badanej próbki? Zgodnie z moim doświadczeniem, w prowadzeniu badań termicznych, przedstawione na omawianym rysunku „surowe” dane należałoby zaprezentować w bardziej klarowny sposób. Dlaczego zgodnie z wynikami DSC najsilniejsze oddziaływania zaobserwowano z nanocząstkami o największych rozmiarach? Pani Patrycja Beldzińska, w opisywanym manuskrypcie, wykonała również kompleksowe badania biologiczne, pozwalające na ocenę wpływu wielkości i stężenia nanocząstek platyny na obniżenie mutagenności epirubicyny. Z kolei na podstawie testów cytotoksyczności Doktorantka potwierdziła istotny wpływ PtNPs, które w wyraźny sposób wspomagały cytotoksyczność leku.

W podsumowaniu (na str. 38 i 39) oceniana rozprawa doktorska zawiera wypunktowane, syntetycznie przedstawione wnioski, dotyczące wpływu nanocząstek platyny na wybrane leki przeciwnowotworowe. Podobnie jak w przypadku części teoretycznej, sądzę, że odpowiednie stabelaryzowanie wyników, z podziałem na wielkość nanocząstek Pt, rodzaju użytej substancji czynnej oraz metod badawczych, pozwoliłby na bardziej klarowne dostrzeżenie trendów zmian w obszarze badanych

układów. Dodatkowo Autorka stwierdza, że systemy oparte na nanocząstkach metalicznych mają ogromny potencjał w usprawnianiu terapii przeciwnowotworowych, dzięki możliwości selektywnego dostarczania leków i minimalizowania skutków ubocznych. Dlatego też wierzę, że dalsze badania realizowane w tym kierunku, przyczynią się do opracowania jeszcze bardziej skutecznych i efektywnych systemów przeciwnowotworowych.

Warto zaznaczyć, że dorobek naukowy mgr Patrycji Bełdzińskiej nie odgranicza się jedynie do przedstawionych w dysertacji publikacji naukowych (2+1). Doktorantka jest współautorką 6 publikacji wg baz danych: Web of Science (WoS); Scopus (h -index=2); międzynarodowego systemu identyfikacji autorów prac naukowych - ORCID (0000-0002-4743-5197). Dodatkowo mgr Patrycja Bełdzińska zaprezentowała swoje wyniki badań w postaci 6 posterów oraz 2 wystąpień podczas krajowych i zagranicznych konferencji naukowych.

Uważam, że mgr Patrycja Bełdzińska przygotowując publikacje naukowe oraz recenzowaną rozprawę doktorską udowodniła, że posiada wiedzę i umiejętności do prowadzenia badań naukowych na najwyższym poziomie. Koncepcja pracy oraz uzyskane wyniki badań, jak również wykorzystane techniki badawcze, potwierdzają dojrzałość naukową doktorantki.

Po zapoznaniu się z przedstawioną pracą oraz publikacjami wchodzącymi w skład recenzowanej dysertacji stwierdzam, że rozprawa spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, w sprawie nadania stopnia doktora, według ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku – prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.), dlatego też wnoszę do Rady Dyscypliny Biotechnologia Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pani mgr Patrycji Bełdzińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Michał Strankowski