

Olsztyn, 4 września 2025 r.

dr hab. Mariusz Szabelski, prof. UWM
Katedra Fizyki i Biofizyki
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Michała Oczapowskiego 4
10-719 Olsztyn

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pani mgr Patrycji Beldzińskiej
zatytułowanej:**

**„Wpływ nanocząstek platyny o różnej wielkości na aktywność wybranych leków
przeciwnowotworowych”**

wykonanej pod kierunkiem Pana dr hab. Jacka Piosika, prof. UG w Pracowni Biofizyki
Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego
Uniwersytetu Medycznego.

Choroby nowotworowe są jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie, dlatego też intensywnie prowadzi się badania nad rozwijaniem istniejących i opracowaniu nowych metod terapeutycznych. Chemioterapia jest najczęściej stosowaną metodą leczenia ze względu na jej dostępność, cenę i szerokie spektrum działania na różne nowotwory. Niestety jest to metoda, która powoduje wiele dotkliwych skutków ubocznych ze względu na jej niespecyficzny mechanizm działania i niszczenie oprócz komórek nowotworowych również te zdrowe. Obecnie w wielu renomowanych ośrodkach naukowych na świecie trwają próby opracowania metody terapeutycznej pozwalającej na precyzyjne i selektywne dostarczenie leku do komórki nowotworowej nie narażając zdrowych komórek na działanie leku. Jednym ze sposobów osiągnięcia tego celu jest zastosowanie nanocząstek o unikalnych właściwościach zależnych od ich rodzaju i wielkości. W nurt tych badań doskonale wpisuje się rozprawa doktorska Pani mgr. Patrycji Beldzińskiej. Doktorantka do swoich badań wykorzystała nanocząstki platyny oraz trzy leki stosowane w terapiach onkologicznych. Wykonała szereg doświadczeń z wykorzystaniem różnych technik w celu zbadania ich właściwości biofizycznych i biologicznych pod kontem potencjalnego wykorzystania tych nanocząstek i ich kompleksów z lekami w medycynie.

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska jest opracowaniem w formie spójnego tematycznie zbioru dwóch artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych z listy JCR oraz jednego manuskryptu wysłanego do redakcji czasopisma (w recenzji). We wszystkich pracach doktorantka jest pierwszą autorką, co po uwzględnieniu informacji zawartych oświadczeniach współautorów świadczy o jej dominującym udziale w powstaniu tych publikacji. Rozprawa doktorska została przygotowana w formie popularnie nazywanej „zszywką” i posiada układ charakterystyczny dla tego typu dysertacji. Oprócz przedstawienia trzech prac naukowych wraz z materiałami dodatkowymi zawiera między innymi streszczenie w języku polskim i angielskim, obszerny wstęp wprowadzający do tematyki badań, omówienie wyników oraz wnioski. Doktorantka przedstawia też pełny opis swojego dorobku naukowego. Cele pracy zostały sformułowane w sposób przejrzysty, niestety zabrakło przedstawienia hipotez badawczych. Dodatkowo po spisie treści znajduje się wykaz skrótów, który w znaczący sposób usprawnia czytanie pracy. Rozprawa napisana jest poprawnym językiem i dobrze się ją czyta, choć autorka nie uniknęła kilku wpadek jak na przykład na stronie 9 pierwsza linijka od góry jest napisane: „Wykorzystano szereg analiz fizykochemicznych w tym metody spektroskopowe, fluorymetryczne...” – chciałbym zwrócić uwagę, że określenie „metody spektroskopowe” jest to bardzo szerokie pojęcie, w którym zawierają się też pomiary fluorymetryczne. Są to jednak drobne potknięcia jakie zazwyczaj się zdarzają w dysertacjach i w żaden sposób nie umniejszają wartości rozprawy.

Po zapoznaniu się z dysertacją Pani mgr. Patrycji Beldzińskiej nasunęło mi się kilka uwag oraz pytań, na które prosiłbym autorkę o udzielenie odpowiedzi.

W opisie pomiarów widm fluorescencji autorka popełniła ewidentną omyłkę podając zakres pomiaru widm od 400 do 800 nm przy wzbudzeniu 480 nm. Prawidłowo zakres pomiaru powinien zaczynać się powyżej 480 nm i tak jest na przedstawionych rysunkach pokazujących zmierzone od 500 nm widma emisji. Brak jest też informacji o konfiguracji pomiaru i wielkości kuwety. Można się domyślać, że chodziło o standardową kuwetę o drodze optycznej 1 cm i konfiguracji sprzętowej typu L, czyli wzbudzenie i obserwacja pod kątem prostym.

Doktorantka przedstawiając widma absorpcji na osi Y przedstawiła wartości molowych współczynników absorpcji zamiast absorbancji. Ten zabieg nic nie wnosi do pracy a jedynie utrudnia dobór stężeń i/lub kuwety do pomiarów fluorescencyjnych. Chciałbym zwrócić uwagę, że wartość absorbancji przy długości fali wzbudzenia nie powinna

przekraczać 0,1 ze względu na występowanie efektu filtrów wewnętrznych dla pomiarów fluorescencji prowadzonych w konfiguracji L. Oczywiście wartość absorbancji, przy której jest już widoczny wpływ filtrów na widma fluorescencji będzie zależała od rodzaju związku i dla chromoforów charakteryzujących się dużymi wartościami molowych współczynników absorpcji będzie znacznie mniejsza niż ogólnie przyjęta wielkość 0,1. Niestety po przeliczeniu wartości z molowych współczynników absorpcji na absorbancję okazuje się, że doktorantka znacznie przekroczyła dopuszczalne wartości i tak dla doksorubicyny przy długości fali wzbudzenia wartość absorbancji wyniosła 0,4 a dla epirubicyny 0,2. Co gorsza doświadczenia dotyczące miareczkowania obu tych leków nanocząstkami platyny zostało wykonane niezgodnie ze sztuką a mianowicie w trakcie serii pomiarowej dochodzi do zmiany stężenia substancji miareczkowanej (brak stałego stężenia leku w wyniku rozcieńczania). Jeżeli w przypadku miareczkowania spektrofotometrycznego nie ma to większego znaczenia to już w pomiarach fluorescencyjnych ma to wyraźny wpływ na sygnał próbki. Należy pamiętać, że pomiary fluorescencji są kilka rzędów czulszą metodą niż spektrofotometria i nawet niewielkie zmiany stężenia będą wpływać na rejestrowaną intensywność świecenia fluoroforu, dodatkowo ze względu na efekt filtrów wewnętrznych powyżej pewnego stężenia związku (absorbancja większa od 0,1) sygnał fluorescencji przestaje zmieniać się proporcjonalnie do stężenia. W takiej sytuacji nie widzimy rzeczywistej zmiany sygnału fluorescencji w wyniku oddziaływania pomiędzy lekiem a nanocząstkami. Należy jednak podkreślić, że Pani mgr. Patrycja Bełdzińska pomimo niezbyt właściwej procedury pomiarowej dokonała ostrożnej, lecz właściwej interpretacji uzyskanych wyników i wskazała jedynie na spadek sygnału fluorescencji dwóch badanych chemioterapeutyków wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek platyny co jest prawdą. Bardzo dobrze świadczy to o dojrzałości i uczciwości naukowej doktorantki. Szkoda, że autorka nie zgłębiła tego problemu lepiej i nie wykorzystwała możliwości analizy gaszenia fluorescencji doksorubicyny oraz epirubicyny przez nanocząstki platyny z zastosowaniem teorii Sterna-Volmera. Dzięki temu mogłaby wyznaczyć parametry oddziaływania pomiędzy lekami i nanocząstkami oczywiście pod warunkiem prawidłowego przeprowadzenia eksperymentu bez rozcieńczania próbki w trakcie miareczkowania.

W rozprawie przedstawione zostały badania w dwóch różnych fazach. Większość stanowią doświadczenia w środowisku wodnym, oprócz których wykonano doświadczenia w fazie stałej takie jak pomiary widm w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) i w bliskiej podczerwieni (NIR) oraz zdjęcia z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych AFM. Jak sama autorka wskazuje nie można bezpośrednio porównywać tych wyników ze względu

na różne środowiska. Brakuje tu pewnego rodzaju „łącznika” pomiędzy tymi badaniami. Próbkki do badań w fazie stałej powstały poprzez usunięcie wody, w mojej ocenie warto byłoby również przeprowadzić proces odwrotny i sprawdzić czy po ponownym zawieszeniu w buforze próbki będą wykazywały takie same właściwości jak na początku np. w doświadczeniach spektroskopowych i biologicznych. Dodatkowo, należałoby sprawdzić, czy próbki wykazują odpowiednią stabilność i nie ulegają degradacji pod wpływem światła, temperatury czy tlenu z powietrza. Pani mgr Patrycja Beldzińska w swojej dysertacji podkreśla możliwości aplikacyjne otrzymanych kompleksów leków z nanocząstkami platyny w medycynie a skoro tak to bardzo istotne jest zbadanie wpływu różnych czynników ze względu na późniejszą produkcję leków i ich przechowywanie. Doskonale rozumiem, że okres studiów doktoranckich jest ograniczony i nie pozwala to na wykonanie wszystkich możliwych badań, ale chciałbym zapytać czy tego typu doświadczenia rozważała doktorantka, jakie ma w tej kwestii plany, a może już posiada pewną wiedzę na ten temat i mogłaby się nią podzielić w trakcie obrony doktoratu.

Prowadzone obecnie na świecie badania dotyczące potencjalnego wykorzystania różnego rodzaju nanocząstek jako transporterów leków w większości sprowadzają się do podstawowych badań fizykochemicznych i biofizycznych oraz sprawdzenie ich działania na wybrane linie komórkowe czy bakterie. Niestety w większości tych prac nie ma wyników wskazujących co się potem dzieje z nanocząstkami w organizmach żywych. Bardzo bym prosił doktorantkę o omówienie jakim procesom będą ulegać zastosowane nanocząstki platyny w organizmie człowieka, czy będą ulegały rozkładowi, będą wydalone (jeśli tak to w jaki sposób) a może będą się akumulować w tkankach i narządach ludzkich.

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską oceniam wysoko. Uważam, że w pełni spełnia ustawowe i zwyczajowe wymogi stawiane pracom doktorskim. Pomimo wskazanych przeze mnie niedociągnięć uważam przedstawioną do recenzji dysertację za bardzo wartościową pod względem naukowym i wpisującą się w jeden z najważniejszych nurtów badań w walce z chorobami nowotworowymi. Oprócz oceny samej rozprawy doktorskiej na uwagę zasługuje również bogaty dorobek Doktorantki świadczący o jej dużym zaangażowaniu w pracę naukową i pracowitości.

Stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska Pani mgr. Patrycji Beldzińskiej, przygotowana pod opieką Pana dr hab. Jacka Piosika, prof. UG, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jak również wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną doktorantki i dowodzi umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Autorka rozprawy spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora zgodnie z

art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz.U.2024.1571 ze zm.). Wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Patrycji Beldzińskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.



dr hab. Mariusz Szabelski, prof. UWM