



WYDZIAŁ BIOLOGII  
i OCHRONY  
ŚRODOWISKA

Uniwersytet Łódzki

Łódź, 29.03.2022 r.

prof. dr hab. Maria Bryszewska  
Kierownik Katedry Biofizyki Ogólnej

Recenzja pracy doktorskiej mgr Alicji Hinz

**„Analiza toksyczności oraz biodystrybucji różnych typów nanonośników pod kątem ich wykorzystania do transportu leków przeciwnowotworowych”**

Promotor pracy: prof. dr hab. Joanna Bereta

Promotor pomocniczy: dr Monika Bzowska

Konwencjonalna chemioterapia, mimo wielu lat badań na jej ulepszeniu, cały czas nie spełnia pokładanych w niej oczekiwań. Od pewnego czasu, z racji burzliwego rozwoju nanotechnologii, badana jest możliwość zastosowania nanomateriałów w charakterze nanotransporterów leków bądź jako leków *per se*. Fundamentalną rolę odgrywają tutaj właściwości stosowanych nanoformulacji, w pierwszym rzędzie brak toksyczności w stosunku do zdrowych tkanek, brak reakcji ze strony układu odpornościowego po ich podaniu i ich dystrybucja w organizmie. Tymi właśnie zagadnieniami zajęła się mgr Alicja Hinz w swoich badaniach wybranych grup nanoformulacji, poszukując nanocząstek o możliwie niskim

poziomie toksyczności wobec komórek *in vitro*, a w badaniach *in vivo* określając narządy szczególnie narażone na ich niekorzystne działanie.

Praca doktorska ma układ klasyczny. Metodyka badań, zastosowane materiały, opis i dyskusja uzyskanych wyników badań są poprzedzone obszernym wstępem. „Wstęp” jest szerokim i bardzo dobrze napisanym przeglądem dotyczącym nanocząstek – zawiera ich definicję, rodzaje, sposoby syntezy, możliwości modyfikacji powierzchni i wpływ tej modyfikacji na charakter oddziaływania z materiałem biologicznym oraz charakterystykę fizyko-chemiczną ze zwróceniem szczególnej uwagi na ich właściwości i potencjalne zastosowanie do transportu czynników aktywnych do komórki. Sporo miejsca poświęciła tu Doktorantka opisowi skuteczności terapeutycznej opracowanych dotychczas nanoformulacji konstatując, iż mimo prowadzonych od wielu lat badań nie ma w tej kwestii zasadniczego postępu. Podała wiele przyczyn takiego stanu rzeczy i opisała strategie mogące zwiększyć tę efektywność.

Do tej części pracy mam następujące uwagi: myślę, że bez szkody dla zawartości, a z korzyścią dla zwięzłości, podpunkt zatytułowany „Badane nanocząstki” mógłby być przerzucony do paragrafu „Materiały” i połączony z tam występującym tekstem o tytule „Nanocząstki”. Dodatkowo pewnym rozczarowaniem było dla mnie kompletne pominięcie we „Wstępie” informacji nt. dendrymerów, polimerów, które są bardzo intensywnie badane od kilkadziesiątu już lat w aspekcie ich zastosowań w terapii i obrazowaniu, w tym również w charakterze niewirusowych wektorów przenoszących leki.

W pierwszej części eksperymentalnej swojej rozprawy doktorskiej mgr Alicja Hinz zajęła się badaniem właściwości cytotoksycznych *in vitro* szeregu nanonośników w celu dokonania oceny ich użyteczności do transportu leków przeciwnowotworowych. Druga część doświadczalna pracy została poświęcona badaniom *in vivo*: analizie farmakokinetyki, biodystrybucji i dróg wydalania z organizmu badanych nanonośników. Do badań wykorzystano 3 główne typy formulacji: (i) polielektrolitowe nanonośniki zakończone poli-L-lizyną (PLL), poli-L-kwasem glutaminowym (PGA) lub glikolem polietylenowym (PEG); (ii) micelle powstałe w wyniku samoorganizacji alginianu sodu z kurkuminą; (iii) liposomy kationowe (KAT) oraz kationowe stabilizowane warstwą silikonową (SS). W celu zbadania biodystrybucji i farmakokinetyki, przeprowadzonej tylko dla nanonośników polielektrolitowych, zostały one wyznakowane kowalencyjnie cząsteczkami rodaminy B. Nośniki były pozyskiwane przez

Doktorantkę od współpracujących zespołów z Wydziału Chemii UJ oraz Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN w Krakowie. Działaniu tych nanonośników poddała ludzkie krwinki czerwone (RBC) oraz komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC). Wyniki badań hemolizy krwinek i żywotności komórek PBMC wskazały na membranolytyczne działanie kationowych nośników zakończonych poli-L-lizyną (PLL), w związku z czym nie zostały one zakwalifikowane do dalszych badań. Pozostałe nanonośniki nie wykazywały toksyczności w stosunku do badanych komórek i nie wpływały również na równowagę oksydacyjną komórek ludzkiego raka wątroby HepG2, więc wszystkie weszły do kolejnego etapu badań.

Rozdział „Wyniki” jest bardzo obszerny, zajmuje prawie 50 stron tekstu, co jest niewątpliwie związane z bogactwem opracowywanego materiału. Myślę jednak, że można by go nieco „odchudzić” rezygnując z (prawie) trzech pierwszych stron tekstu „Ocena interakcji nanomateriałów z komórkami – badania *ex vivo* i *in vitro*”, które mogły być włączone do rozdziału „Wstęp”. Dodatkowo opis każdego uzyskanego wyniku jest uzupełniany dość obszerną dyskusją, która później jest częściowo powtarzana w rozdziale „Dyskusja”. Wydaje mi się, że bardziej oszczędny opis wyników w tej części pracy byłby uzasadniony.

„Dyskusja” liczy 30 stron tekstu. Jest napisana z dużym znawstwem tematu, oparta o bardzo bogatą literaturę światową (346 pozycji). W dyskusji Doktorantka dyskutuje uzyskane przez siebie wyniki konfrontując je z osiągnięciami innych autorów, krytycznie je oceniając i formułując perspektywy dalszych badań. Dyskusję spina bogato ilustrowany podrozdział „Podsumowanie wyników badań”, podsumowujący najważniejsze uzyskane w pracy wyniki.

Nie jest rolą recenzenta szczegółowe omawianie uzyskanych przez Doktorantkę wyników, lecz ich ocena. W mojej opinii uzyskane przez Doktorantkę wyniki stanowią bardzo cenne uzupełnienie i rozwinięcie istniejących badań nanomateriałów. Budzą zaufanie, bo zostały uzyskane we współpracy z naukowcami zajmującymi się tą tematyką, pod okiem Promotora o dużym dorobku naukowym w tej dziedzinie. Przede wszystkim jednak zostały opublikowane w bardzo dobrych periodykach naukowych, o dużej sile oddziaływania (IF) i wysokiej punktacji na liście MEiN czasopism, co jest gwarancją ich wysokiej jakości. Sądzę, że praca zawiera jeszcze wiele wyników, które powinny zostać opublikowane, powiększając dorobek publikacyjny Doktorantki.

Tekst rozprawy jest bardzo starannie opracowany pod względem edytorskim, poprawny językowo, praktycznie pozbawiony tzw. literówek. Wykresy są jasne, czytelne, podtytuły w tekście umożliwiają zauważenie najbardziej istotnych wyników.

Podsumowując uważam, że praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom naukowym na stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne, zwracam się więc do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego z prośbą o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Alicji Hinz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie w pełni doceniając nowatorskie osiągnięcia Doktorantki, Jej dorobek naukowy, jakość i wartość naukową wykonanych prac oraz jakość i profesjonalizm opracowania rozprawy, wnioskuję o wyróżnienie jej stosowną nagrodą.

KIEROWNIK  
KATEDRY BIOFIZYKI OGÓLNEJ UŁ  
*Marynusia*  
prof. zw. dr hab. Maria Bryszewska