



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA  
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71  
www.iitd.pan.wroc.pl

Janusz Boratyński

Wrocław 19 października 2017r.

Kierownik Laboratorium  
Chemii Biomedycznej „Neolek”  
Zakład Onkologii Doświadczalnej  
53-114 Wrocław  
Ul. Rudolfa Weigla 12  
Tel. 71 37009980

## RECENZJA

### **rozprawy doktorskiej Pani mgr Niny Filipczak pt. „ Nowa liposomowa formuacja mitoksantronu i substancji bioaktywnych pochodzenia naturalnego oraz ocena jej skuteczności w zwalczaniu nowotworów skóry”**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Niny Filipczak pt. „ Nowa liposomowa formuacja mitoksantronu i substancji bioaktywnych pochodzenia naturalnego oraz ocena jej skuteczności w zwalczaniu nowotworów skóry” została wykonana pod kierunkiem dr hab. Jerzego Gubernatora w Zakładzie Lipidów i Liposomów Uniwersytetu Wrocławskiego. Praca została przedstawiona do recenzji w formie 149 stronicowego polskojęzycznego manuskryptu. W pracy poprawnie zacytowano 199 publikacji. Praca doktorska jest napisana w tradycyjnej formule. We wstępie Doktorantka poruszyła następujące zagadnienia: biologię czerniaka, liposomy, opisuje substancje bioaktywne pochodzenia naturalnego wykorzystywane w badaniach własnych oraz zagadnienia apoptozy. Najciekawszy i najbardziej wartościowy jest segment dotyczący liposomów. Ciekawą jest informacja dotycząca oddziaływania DNA z mitoksantronem w obecności formaldehydu.

Za wartościowe uważam również informacje przedstawione w pozostałych podrozdziałach wstępu. Praca o charakterze interdyscyplinarnym nie pozostawia wyboru. Każdy element ujmowany w badaniach musi znaleźć odbicie we wprowadzeniu.

Doktorantka jest współautorem 5 publikacji o łącznym współczynniku wpływu IF ponad 16.

Badania były realizowane w dzięki finansowaniu Wrocławskiego Centrum Badań EIT + w ramach projektu „Biotechnologie i zaawansowane technologie medyczna” BioMed (POIG 01.01.02-02-003/08) przy wsparciu finansowym European Regional Development Found (1.1.2) oraz w ramach grantu ETIUDA 3 we współpracy z Center for Pharmaceutical Biotechnology and Nanomedicine, Northeastern University, Boston USA.

Zagadnienia badań nad liposomami mają wieloaspektowy interdyscyplinarny charakter. Praca doktorska wpisuje się w ten nurt badań.

Liposomy są ważnym orężem aplikacyjnym i poznawczym a zarazem przykładem jak jedno spostrzeżenie mogło dramatycznie poszerzyć możliwości tych nanaocząstek. Otrzymanie liposomów zawierających na swojej powierzchni glikol polietylenowy było kamieniem milowym, którego wyznacznikiem stał się preparat „DOXIL”.

W tworzeniu badanych struktur liposomów wykorzystano kwas anakardowy.

Intrygującym było oczekiwanie Doktorantki na wyniki aktywności biologicznej tego typu liposomów. O wyborze podejścia zdecydowały opisane przez Doktorantkę właściwości tego kwasu. Można było oczekiwać, że ta amfifilowa cząsteczka wbudowana w strukturę liposomów wpłynie na ich biologiczną aktywność. Wolny kwas i jego pochodne są inhibitorami acetylotransferaz histonów. Kwas może wpływać na angiogenezę zależną od VEGF. Mechanizm działania przeciwnowotworowego kwasu anakardowego nie jest w pełni poznany.

Dlatego tak ważne było zbadanie właściwości liposomów różniących się wbudowaną w nie zawartością kwasu anakardowego. Zagadnienie zostało gruntownie zbadane i uzyskano odpowiedź, która nie zawsze jest taka o jakiej marzą Twórcy.

W rozdziale Materiały i Metody zaprezentowane zostały procedury wykorzystywane w niniejszej rozprawie. przedstawiony materiał świadczy o poprawności przeprowadzonych eksperymentów. Chciałbym jednak poprosić o komentarz w następujących zagadnieniach:

Interesuje mnie opinia Doktorantki o użyteczności odczynnika Dagendorffa w oznaczaniu obecności PEGu. Brakuje mnie np. obrazu TLC oraz pełnego opisu warunków filtracji żelowej. W tym samym segmencie brakuje szczegółów dotyczących usuwania nieprzereagowanych składników PEG przeciwciała/transferyna.

Następne zagadnienie w sprawie którego można by było oczekiwać komentarza Doktorantki dotyczy obecności w liposomach witaminy C. Kwas askorbinowy ma właściwości redukujące.

Doktorantka w badaniach nad wykorzystywała test MTT. Miarą funkcji życiowych jest poziom redukcji substratu skutkujący powstaniem barwnego produktu. Chciałbym usłyszeć opinię Doktorantki czy obecność kwasu askorbinowego we wnętrzu komórek mogła mieć wpływ na wynik testu „poprawiając” wyniki żywotności komórek. Trzeba zaznaczyć, że zdecydowana większość mediów hodowlanych nie zawiera witaminy C.

Stabilność liposomów badano podczas rocznego ich przechowywania. Takie podejście choć niezbędne to znacznie wydłuża czas badań. Chciałbym poprosić o opinię na temat stabilności liposomów w środowisku fal dźwiękowych. Jaki wpływ na stabilność liposomów miałyby środowisko długich fal dźwiękowych np w dolnej granicy słyszalności a z drugiej w obecność fal ultradźwiękowych? W przypadku środowiska ultradźwiękowego pewnie trzeba by było stosować roztwory ze zubożoną zawartością rozpuszczonych gazów. Od niedawna wykorzystanie fal dźwiękowych znajduje swoich zwolenników w środowisku medycyny klinicznej w szczególności w terapiach schorzeń neurologicznych.

Może zadane pytanie będzie inspiracją do rozważań na temat stabilności liposomów „słuchających muzyki”.

Praca jak większość tego typu opracowań nie jest pozbawiona błędów i potknięć. Na przykład poprawna informacja o warunkach wirowania powinna zawierać dane o wielokrotności „g” a nie liczbie obrotów/min str 58. W opisie innego doświadczenia dane są podane poprawnie.

W mojej opinii niektóre rysunki są trudno czytelne na przykład rys 25, 30

Niektóre rysunki zawierają błąd edytorski podając na osi X stężenie MIT ( na przykład rys 12) kiedy badane preparaty nie zawierały mitoksantronu.

Nie mogę oprzeć się krytycznej opinii odnośnie kolorystyki tabel. Opisy merytoryczne w kolorze czarnym są umieszczone na ciemnogrnatowym tle. O innych dostrzeżonych potknięciach poinformowałem Doktorantkę ustnie

Celem strategicznym doktoratu powinno być przygotowanie doktoranta do samodzielności i ten cel poprzez opracowanie dysertacji i poprzez udział w publikacjach podsumowujących elementy badań Zespołu Doktorantka spełniła.

### Podsumowanie

Stwierdzam, że Doktorantka wykonała ciekawą i nowatorską pracę badawczą. Zamierzenia badawcze zostały osiągnięte. Wyniki badań i wysnute wnioski przedstawione w rozprawie, mają dużą wartość naukową. Rozprawa choć nie pozbawiona drobnych potknięć została napisana poprawnie i przejrzysto pod względem językowym i edytorskim. Zauważone błędy i moja krytyka strony edytorskiej (być może polemiczna) nie umniejszają wartości naukowej rozprawy. Pani mgr Nina Filipczak wykazała bardzo szeroką wiedzę podstawową, jak i specjalistyczną w szeroko ujmowanej tematyce badań nad liposomami oraz dużymi umiejętnościami stosowania badawczych metod i technik w zakresie biologii i fizykochemii.

Przedstawiona do oceny rozprawa, w moim przekonaniu, spełnia wymagania stawiane ustawowo rozprawom doktorskim, dlatego przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego wniosek o dopuszczenie mgr Niny Filipczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa odpowiada w pełni wymogom stawianym dysertacjom na stopień doktora, określonym w art. 13 ust 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016r., poz. 882 ze zm.)

Wnioskuje również o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani Niny Filipczak zgodnie z regulaminem właściwej jednostki naukowej.

Janusz Boratyński

