



UNIwersytet MARIi CURIE-SKŁODOWSKIEJ W LUBLINIE
Wydział Chemii

dr hab. Agnieszka Ewa Wiącek, prof. UMCS
Katedra Zjawisk Międzyfazowych
Instytut Nauk Chemicznych

Lublin, 07.08.2023 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr farm. Adama Kasińskiego zatytułowanej „Hydrożelowe nośniki nanocząstek magnetycznych i cytostatyków – synteza, charakterystyka strukturalna, badania fizykochemiczne i aplikacyjne”

Rozprawa pod kierunkiem Pana Promotora Prof. dr hab. inż. Marcina Sobczaka oraz Promotora pomocniczego Pani dr Moniki Zielińskiej-Pisklak została wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej i Biomateriałów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Recenzję opracowano na podstawie uchwały Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych WUM z dnia 5 lipca 2023 roku na wniosek Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Prof. dr hab. n. farm. Grzegorza Nałęcz-Jaweckiego z dnia 07.07.2023 r. (pismo RDN/RDNF/D-732/2/23) zgodnie z przepisami zawartymi w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce), jak również zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Edukacji i Nauki w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora.

Rozprawa doktorska mgr Adama Kasińskiego opiera się na 3 spójnych tematycznie, bardzo obszernych artykułach naukowych opublikowanych w prestiżowych czasopismach międzynarodowych z bazy JCR, w tym 31-stronicowego artykułu przeglądowego. Sumaryczny IF dla tych prac zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 18,816, co daje imponujący wskaźnik średnio 6,27 na pracę i jednocześnie wysokie punkty ministerialne, MEiN=420 pkt. Udział Doktoranta w wyżej wymienionych pracach jest dominujący, od 60 do 80%, co zostało uwidocznione w oświadczeniach, które jednoznacznie określają charakter wkładu mgr A. Kasińskiego w powstanie publikacji. Na ich podstawie mogę stwierdzić, że Doktorant był zaangażowany na każdym z etapów tworzenia prac począwszy od opracowania koncepcji projektu badawczego, wykonania eksperymentów, w tym przeprowadzenia reakcji syntezy, badań strukturalnych, fizykochemicznych, analitycznych i farmaceutycznych, interpretacji uzyskanych wyników, gromadzenia niezbędnej literatury, pisania



oryginalnego tekstu prac i kontrolowania procesu ich wydania, w tym dyskusji z recenzentami oraz opracowania odpowiedzi na ich uwagi.

Przedruki prac wchodzących w zakres dysertacji poprzedza 44-stronicowe wprowadzenie w tematykę doktoratu zawierające streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, założenia i cel badań, etapy realizacji pracy doktorskiej, opis przeprowadzonych badań, wnioski końcowe i bibliografię. Spis literatury obejmuje 85 pozycji, z czego tylko 2 ukazały się przed rokiem 2000, a zdecydowana większość to prace z lat 2015-2022. Świadczy to o trafnym doborze literatury oraz umiejętności krytycznej analizy dostępnych informacji, a pośrednio także o nowatorskim charakterze badań zawartych w dysertacji i znajomości przedmiotu. Prace wchodzące w zakres rozprawy doktorskiej ściśle powiązane tematycznie są dobrym przykładem przemyślanego i kompleksowo zrealizowanego, krok po kroku, projektu badawczego. Doktorant podaje na samym początku informację, że badania były finansowane ze środków MEiN przeznaczonych na działalność statutową WUM w ramach Grantu Młodego Badacza (nr projektu 03/F/MBM/21).

Doktorant w swoim dorobku ma jeszcze jedną pracę o wysokiej punktacji (w czasopiśmie *Materials*, IF=3,4, 140 pkt MEiN), która nie wchodzi w skład dysertacji, jak również liczne wystąpienia na seminariach studenckich i ogólnopolskich konferencjach, w sumie 7 prezentacji. Ogółem prace były cytowane 92 razy wg bazy Scopus (110 wg Google scholar), co w mojej ocenie jest dobrym wynikiem na tym etapie kariery naukowej.

Na stronie 28 przewodnika sformułowano w sposób precyzyjny a jednocześnie zwięzły założenia i cel naukowy prezentowanej rozprawy doktorskiej, a także szczegółowe cele badań. Celem rozprawy było opracowanie innowacyjnych, biodegradowalnych systemów terapeutycznych odpowiednich do iniekcji, uwalniających substancję przeciwnowotworową w sposób przedłużony i kontrolowany, przy wykorzystaniu nowatorskiej technologii hydrożeli wrażliwych jednocześnie na bodźce termiczne i magnetyczne. Systemy te docelowo miały umożliwiać chemioterapię skojarzoną z hipertermią, aby w sposób synergistyczny zwiększyć skuteczność tej terapii. W tak określonym celu badawczym już na wstępie wyraźnie zarysowuje się duży aspekt aplikacyjny badań poparty celami szczegółowymi, wśród których należy wyróżnić zapewnienie biofunkcjonalności materiału, otrzymanie hydrożelowych systemów terapeutycznych uwalniających cytostatyki w sposób przedłużony i kontrolowany, a dodatkowo z możliwością wywoływania w tych układach hipertermii indukowanej magnetycznie.

Tematyka recenzowanej rozprawy jest w moim odczuciu bardzo interesująca, gdyż dotyczy ona istotnego aspektu, zarówno pod względem poznawczym, jak i technologicznym, jakim jest poszukiwanie skutecznej terapii przeciwnowotworowej w aspekcie zagadnień związanych z wciąż rosnącą liczbą zachorowań i zgonów. Doktorant we wstępie podaje, że zgodnie z raportem Światowej



Organizacji Zdrowia z 2020 r. choroby onkologiczne stanowią pierwszą albo drugą najczęstszą przyczynę przedwczesnej śmierci w 134 ze 183 badanych krajów. Polska niestety wpisuje się w te statystyki, jedynie choroby układu krążenia są częstszą przyczyną zgonów. Każdy z nas ma, lub niestety miał osoby w bliskim otoczeniu dotknięte chorobą onkologiczną. Nie dziwi więc ogromna praca wielu zespołów badawczych na całym świecie poświęcona przysłowiowemu wynalezieniu „leku na raka”, tym bardziej, że według prognoz w kolejnych latach tego typu zachorowania będą wykazywać tendencję wzrostową ze względu na zmiany środowiskowe i tryb życia współczesnego człowieka. Wymienione przeze mnie aspekty w pełni uzasadniają zatem celowość badań opisanych przez mgr farm. A. Kasińskiego w dysertacji przedłożonej do recenzji.

W ramach przeprowadzonych badań Doktorant otrzymał biodegradowalne kopolimery blokowe ϵ -kapolaktonu i laktydu w reakcji polimeryzacji z otwarciem pierścienia, w której w roli koinicjatora zastosowano glikol polioksyetylenowy, zaś jako katalizator acetyloacetonian cyrkonu(IV). Taki zestaw substratów tej reakcji oraz typ polimeryzacji został dobrany na podstawie wcześniej szeroko zakrojonych badań innych podobnych układów przeprowadzonych przez Doktoranta, jak również naukowców z grupy Prof. Sobczaka jako optymalny do zastosowań określonych w celu dysertacji. Mgr farm. A. Kasiński w swoich badaniach skupił się szczególnie na ocenie struktury i właściwości fizykochemicznych oraz zdolności kopolimerów do tworzenia hydrożeli termowrażliwych, potwierdzenia ich cyto- i genotoksyczności, jak również wyznaczenia profilu uwalniania wybranych modelowych substancji przeciwnowotworowych i dostosowania modeli matematycznych. Co warto podkreślić, układy te doskonale wpisują się w nowatorski trend badań nad projektowaniem lokalnych systemów kontrolowanego dostarczania substancji aktywnych, do zastosowań w terapii cytostatykami w skojarzeniu z hipertermią. Hipertermia to metoda wykorzystująca obniżoną tolerancję komórek nowotworowych na podwyższoną temperaturę. Doktorant wysnuł hipotezę, że uwalnianie modelowego cytostatyka z otrzymanego hydrożelu z dodatkiem nanocząstek magnetycznych w skojarzeniu z hipertermią dokładnie w miejscu zmienionym chorobowo powinno doprowadzić do znacznego zwiększenia skuteczności terapii przeciwnowotworowej oraz zmniejszenia skutków ubocznych w efekcie wystąpienia efektu synergii obu tych procesów. W kolejnych etapach badań opisanych w pracach wchodzących w zakres dysertacji konsekwentnie i w sposób logicznie zaplanowany Doktorant starał się udowodnić swoje tezy.

Reasumując, materiał przedstawiony przez mgr farm. A. Kasińskiego w publikacjach wybranych do procedury doktorskiej spełnia wymagania Ustawy w zakresie doboru literatury, opanowania zakresu wiedzy ściśle powiązanego z tematyką doktoratu, jak również uzasadnia celowość podjętych badań. Na tej podstawie z pełnym przekonaniem mogę stwierdzić, że Doktorant osiągnął wysoki poziom wiedzy w reprezentowanej przez niego dyscyplinie nauki. Badania prowadzone przez mgr



farm. A. Kasińskiego należy uznać za nowatorskie i dobrze wpisane w aktualne kierunki badań nad opracowaniem hydrożelowych systemów terapeutycznych do zastosowań przeciwnowotworowych i ogólnie systemów typu *drug delivery* zarówno w aspekcie poznawczym, jak i aplikacyjnym.

Osiągnięcia pracy

Celem recenzji przedłożonej rozprawy doktorskiej jest ocena osiągnięcia naukowego opartego na trzech spójnych tematycznie obszernych publikacjach. W mojej opinii dysertacja jest rezultatem konsekwentnej realizacji ciekawych i nowatorskich pomysłów. Sugerują to prześledzone przeze mnie poszczególne etapy badań, począwszy od syntezy biodegradowalnych kopolimerów blokowych, umiejętnego doboru parametrów mających wpływ na właściwości produktu końcowego, zastosowania wielu nowoczesnych technik badawczych, ściśle uzupełniających się oraz dających pełen wachlarz możliwości szczegółowej charakterystyki (NMR, chromatografii żelowej GPC, dynamicznego rozpraszania światła DLS, TEM), trafnej analizy uzyskanych wyników na poszczególnych etapach i na ich podstawie krytycznego doboru kolejnych badań, a także znalezienia potencjalnych obszarów, w których układy tego typu mogą zostać wykorzystane.

Za największe osiągnięcia dysertacji uważam:

- zsyntezowanie w reakcji o wysokiej wydajności kopolimerów charakteryzujących się założoną w celu dysertacji strukturą, odpowiednią do otrzymania hydrożeli termowrażliwych z temperaturą przejścia zol-żel ściśle w obszarze temperatury fizjologicznej,
- określenie kinetyki uwalniania dwóch różnych leków przeciwnowotworowych, 5-fluorouracylu i paklitakselu z otrzymanych hydrożeli termowrażliwych za pomocą kilku modeli matematycznych,
- możliwość kontrolowania i/lub regulowania profilu uwalniania cystostatyków, przykładowo w sposób przedłużony oraz z dodatkowym zastosowaniem hipertermii,
- możliwość zastosowania opracowanych systemów jako potencjalnych DDS w badaniach aplikacyjnych *in vivo*.



Naukowa dociekliwość narzuca pojawiające się w trakcie lektury dysertacji następujące pytania:

1. Układy, którymi Doktorant zajmował się w czasie badań, jak sam je określił wstrzykiwalne (w mojej ocenie pod względem językowym to określenie jest niezbyt fortunate, lepiej „do wstrzykiwań” lub „iniekcyjne”, mimo ewidentnego zapożyczenia to słowo na dobre zadomowiło się już w języku polskim) należą do tzw. parenteralnych postaci leków, czyli leków dostarczanych pozajelitowo, w odróżnieniu od leków doustnych, przykładowo poprzez iniekcje podskórne, wlewy dożylny, domięśniowo, itp. Jakie warunki muszą spełniać roztwory takich leków, aby mogły być podane pacjentowi właśnie w ten sposób, co nie jest wymagane w przypadku leków podawanych drogą tradycyjną?
2. Na stronie 18 przewodnika pojawia się zdanie „Fizycznie sieciowane hydrożele powstają głównie na skutek oddziaływań hydrofobowych, jonowych bądź krystalizacyjnych....”. Proszę rozwinąć, co Doktorant miał na myśli w tym skrócie myślowym „oddziaływanie krystalizacyjne” na podstawie przeprowadzonych badań i/lub ewentualnie doniesień literaturowych?
3. W opisie hydrożeli termowrażliwych Doktorant stwierdza, że polimery tworzące tego typu układy mają z reguły właściwości amfifilowe, przez co w środowisku wodnym wykazują tendencję do tworzenia miceli typu rdzeń-powłoka. Stosunek części hydrofobowych do hydrofilowych jest jednym z głównych parametrów decydujących o właściwościach układu (przykładowo dolnej i górnej krytycznej temperatury rozpuszczenia, LCTS/UCTS). Czy spotkał się Pan w trakcie przeglądu literatury dotyczącej hydrożelowych układów polimerowych z terminem „krytyczny parametr upakowania” (lub pokrewnym), stosowanym w przypadku lipidów, związków o budowie amfifilowej występujących w błonach biologicznych i określającym rodzaj micel lub innych agregatów, które mogą tworzyć ściśle w powiązaniu z kształtem ich cząsteczek oraz proporcją części hydrofobowych i hydrofilowych wyrażoną tym parametrem? Czy mógłby on zostać zastosowany w przypadku Pana amfifilowych układów polimerowych? Oczywiście zdaję sobie sprawę, że długołańcuchowe układy polimerowe są dużo bardziej skomplikowane, ale tego typu rozważania mogą być pomocne w określeniu oddziaływań błona biologiczna – lek.

W mojej opinii praca doktorska mgr farm. A. Kasińskiego wnosi istotny wkład do dziedziny projektowania biomateriałów, głównie na bazie hydrożeli termowrażliwych o potencjalnych zastosowaniach biomedycznych w systemach dostarczania leków, inżynierii tkankowej lub wyrobach medycznych. Analizując rezultaty badań Doktoranta należy zwrócić uwagę na duży wkład pracy i wykorzystanie wielu właściwie dobranych metod badawczych, tym bardziej, że doskonalenie



metodyki jest szczególnie ważne w rozwoju dziedziny, której dotyczy rozprawa doktorska. Ponadto, wykorzystane przez Doktoranta techniki wymagają pracowitości i precyzji. Należy również podkreślić, że rozprawa jest napisana poprawnym językiem, nie zawiera błędów merytorycznych ani zwrotów potocznych, dobrze się ją czyta, posiada ciekawą szatę graficzną.

Uwagi i komentarze do pracy

Jak już było wspomniane, rozprawa doktorska jest oparta na trzech pracach o zasięgu międzynarodowym opublikowanych w renomowanych czasopismach. Na tej podstawie można sądzić, że prace te (wyniki, ich dyskusja, wnioski) podlegały już wnikliwej ocenie ekspertów, zanim zostały zaakceptowane do druku. W związku z tym proces recenzowania dysertacji jest ułatwiony. W trakcie wykonywania obowiązków Recenzenta zapoznałam się szczegółowo z wszystkimi przesłanymi dokumentami, jak również przedrukami prac stanowiących rozprawę doktorską. Poniżej przedstawiam moje uwagi i komentarze, które nasunęły mi się podczas lektury rozprawy doktorskiej mgr farm. A. Kasińskiego, niektóre z nich mogą być potraktowane jako zachęta do dyskusji lub dalszych pogłębionych badań:

1. W mojej ocenie Wykaz skrótów powinien być usystematyzowany alfabetycznie, ułatwiłoby to lekturę rozprawy. Nie wiem, jak był dobrany klucz, prawdopodobnie kolejnością pojawiania się skrótów w tekście przewodnika, jeśli tak to ułatwieniem byłoby dodatkowo podanie strony.
2. Skrót DLS ma w wykazie oraz w tekście głównym różne określenia, najbardziej zakorzenione w polskojęzycznej literaturze przedmiotu i według mnie najbardziej poprawne to „dynamiczne rozpraszanie światła”, tym bardziej, że mamy podobną technikę określaną jako statyczne rozpraszanie światła.
3. Skrót Δ opisano w dysertacji jako współczynnik dyspersji i jest on stosowany zamiennie z dyspersyjnością (str. 26 węższa dyspersyjność, zbyt duże uproszczenie). Oba te terminy w mojej ocenie są niefortunne, ani w przewodniku ani w pracach anglojęzycznych nie znalazłam doprecyzowania. Przy określeniu rozmiarów, podobnie jak w technice DLS bardziej miarodajny jest termin polidispersyjność lub wskaźnik polidispersyjności, który informuje czy mamy do czynienia z układem homogenicznym (monodispersyjnym, o jednym wymiarze cząstek lub wąskim rozkładzie wielkości cząstek (z *ang. multimodal size distribution*) albo polidispersyjnym tj. kilka wymiarów cząstek lub szeroki rozkład, albo nawet kilka populacji cząstek i wówczas duże rozproszenie). Czy termin współczynnik dyspersji jest tożsamy z polidispersyjnością? Proszę o komentarz.



4. Na str. 37 pojawia się stwierdzenie...dla maksymalnej zastosowanej wartości H możliwej do wykorzystania w celach biomedycznych (12,2 kA/m). Skoro badania przeprowadzone przez Doktoranta miały zarysowany wyraźny cel aplikacyjny a wartość 12,2 kA/m jest podana jako max. do zastosowań biomedycznych to, w jakim celu badania były prowadzone dla dużo wyższych wartości aż do wartości 36,4 kA/m?
5. Jako kontynuację tematyki Doktorant proponuje badania skuteczności przeciwnowotworowej opracowanych systemów w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem hodowli komórkowych, jak również eksperymenty na modelach zwierzęcych. Poproszę o doprecyzowanie, użycie jakich hodowli komórkowych i jakich modeli zwierzęcych byłoby najbardziej zasadne dla tych konkretnych układów i dlaczego?
6. Dlaczego do badań wybrano te konkretne leki i czy otrzymane wnioski mogą zostać uogólnione na szerszą grupę leków przeciwnowotworowych lub określoną grupę leków?
7. Gdyby uzyskał Pan finansowanie na wdrożenie jednego z otrzymanych układów do badań klinicznych to, na który układ by się Pan zdecydował i dlaczego (PCEC czy PCLA), który Pańskim zdaniem najlepiej rokuje?

Mimo ogólnej wysokiej oceny rozprawy chciałabym również zwrócić uwagę na kilka niedociągnięć, mają one charakter głównie uwag technicznych i nie wymagają dyskusji, chyba że Doktorant się z nimi nie zgadza.

1. W przewodniku zdarzają się drobne błędy stylistyczne (np. powtórzenia) i interpunkcyjne, przeskoki myślowe, czasami wkrada się do zdań składnia angielska (np. str. 13 chemicznie modyfikowane pochodne, str. 21 zmienionej nowotworowo tkanki), zapożyczenia z jęz. angielskiego (str. 14 „zwitterjonów” zamiast odpowiedników polskich „jony obojnacze”, str. 15 insercyjno-koordynacyjny (wprowadzenie-koordynacja), międzymolekularnych zamiast międzycząsteczkowych, str. 20 precypitacja zamiast wytrącanie, str. 22 internalizowane zamiast przyswojone, str. 30 inkorporowanie zamiast wprowadzenie, włączenie, str. 33 homogenny roztwór zamiast roztwór homogeniczny, itp.). Prawdopodobnie w efekcie tłumaczenia z języka angielskiego czasami brakuje w polskich zdaniach odmiany przez przypadki (rzeczowniki pojawiają się w mianowniku), co niestety zdarza się coraz częściej w tego typu opracowaniach (np. str. 10 powinno być żelatynę, dekstran czy skrobie).
2. W Tabeli 1 i w tekście głównym pojawia się odwrócona kolejność wartości temperaturowych, najpierw wartość wyższa potem niższa, powinno być odwrotnie, chyba że jest jakieś inne logiczne wytłumaczenie, w pracach anglojęzycznych analogicznie.



3. Co należy podkreślić znalazłam bardzo mało błędów typograficznych tzw. literówek, wdów lub bękartów (str. 7 głównie, str. 27 Oswald powinno być Ostwald, str. 39 Pappasa).
4. Zgodnie z zaleceniami dotyczącymi nomenklatury i systematyki w wyrazach pochodzących z jęz. łacińskiego *in vitro*, *in vivo* należy zastosować czcionkę pochylą, w dysertacji zapisy są prawidłowe, natomiast w pracach anglojęzycznych zapis jest nieprawidłowy. Ponadto, w pracach oryginalnych mamy zapis mL, w dysertacji natomiast ml, powinno to zostać ujednolicone.

Chcę jeszcze raz podkreślić, wskazane niedociągnięcia w moim odczuciu w żadnym stopniu nie umniejszają wartości merytorycznej i naukowej recenzowanej dysertacji mgr farm. A. Kasińskiego oraz nie wpływają na jej wysoce pozytywną ocenę.

Ocena końcowa

Pan Adam Kasiński w pełni zrealizował założony cel badawczy pracy doktorskiej, poprzez wypełnienie wymienionych w rozprawie celów szczegółowych, a przedstawione przez niego wyniki są niezwykle ciekawe zarówno z teoretycznego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Poruszają istotne problemy związane z wykorzystaniem kopolimerów do otrzymywania hydrożeli termowrażliwych dodatkowo ze zdolnością do hipertermii o potencjalnych zastosowaniach biomedycznych. Jest to niezwykle obiecujący obszar badań z uwagi na możliwość zastosowania otrzymanych układów w nowatorskich terapiach przeciwnowotworowych, a przedstawiona dysertacja stanowi solidny materiał wyjściowy do ich kontynuacji.

Rozprawa jest spójna, dobrze zaplanowana doświadczalnie oraz zawiera ciekawą i przemyślaną interpretację nowatorskich wyników. Charakter i efekty podjętych badań w mojej ocenie stanowią znaczący dorobek naukowy w dziedzinie fizykochemii biomateriałów i ogólnie charakterystyki fizykochemicznej szeroko pojętej grupy systemów dostarczania leków (*drug delivery systems*). Podsumowując, stwierdzam, że opiniowana praca doktorska jest wartościowa pod względem poznawczym oraz praktycznym wykazując przy tym niezbędne elementy nowości naukowej i tym samym spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce). Na tej podstawie wnoszę o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Jednocześnie, chcąc podkreślić wysoki poziom aplikacyjny badań przeprowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej Pana mgr farm. A. Kasińskiego wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o jej wyróżnienie.

Agnieszka Lisa Miścaj



