

## RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak  
pt. „Nano- i mikrocząstki hydrożelowe z funkcjonalnymi filmami polielektrolitowymi  
jako nośniki substancji aktywnych pochodzenia naturalnego”**

opracowana na zlecenie Rady Politechniki Wrocławskiej  
(uchwała nr 348/41/RDND05/2021-2021 z dnia 11 października 2023r.)

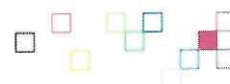
Przedłożona do oceny rozprawa doktorska autorstwa mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak zatytułowana „Nano- i mikrocząstki hydrożelowe z funkcjonalnymi filmami polielektrolitowymi jako nośniki substancji aktywnych pochodzenia naturalnego” została zrealizowana w Katedrze Inżynierii i Technologii Procesów Chemicznych Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej pod naukowym kierunkiem prof. dr hab. inż. Kazimiery Wilk – promotor oraz dr inż. Marty Tsirigotis-Manieckiej – promotor pomocniczy. Tematyka rozprawy dotyczy opracowania metodologii otrzymywania nowych nośników hydrożelowych o pożądanych cechach użytkowych i określonej funkcjonalności przeznaczonych do terapii raka pęcherza moczowego i wpisuje się w nurt badań prowadzonych przez zespół Promotora.

Choroby nowotworowe wywołane niekontrolowanym podziałem komórek występują na świecie w każdej populacji i są wciąż chorobami o stosunkowo dużej śmiertelności. Szacuje się, że na świecie w 2030 r. będą one przyczyną 12 milionów zgonów. W krajach zaliczanych do wysoko rozwiniętych choroby nowotworowe są drugą po chorobach sercowo-naczyniowych przyczyną zgonów. Według danych z 2021 r. wśród chorób nowotworowych rak pęcherza moczowego jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym i niemal cztery razy częściej występuje on u mężczyzn niż kobiet. Według statystyk w Polsce rocznie notuje się ponad 171 tys. nowych zachorowań na raka i ponad 100 tys. zgonów. Fakty te powodują, że konieczny jest ciągły rozwój metod monitorowania nowotworów, ich diagnostyki i skutecznego leczenia. Metodami obecnie wykorzystywanymi w leczeniu raka pęcherza moczowego są: leczenie chirurgiczne (z wycięciem całego pęcherza), radioterapia oraz chemioterapia, która jest leczeniem pierwszego wyboru ze względu na hamowanie rozwoju nowotworu, wydłużenie

okresu przeżycia i poprawę jakości życia pacjenta. Chemioterapia, której głównym celem jest całkowite zniszczenie dzielących się komórek nowotworowych jest wciąż najczęstszą metodą leczenia pomimo faktu, że stosowane w trakcie jej trwania cytotoksyczne leki przeciwnowotworowe mają zdolność działania nieswoistego zarówno na tkanki zmienione chorobowo jak i zdrowe. Należy również pamiętać, że jedną z barier w leczeniu nowotworów za pomocą konwencjonalnych chemioterapeutyków jest to, że docelowe komórki nowotworowe wykazują zmutowaną charakterystykę, co czyni je niedostępnymi. Z tego względu prowadzone są intensywne badania nad opracowaniem nowych leków przeciwnowotworowych o zmniejszonej toksyczności, wydłużonym okresie półtrwania i selektywności w stosunku do tkanek docelowych. Równocześnie poszukuje się skutecznych metod transportu leków za pomocą odpowiednio dobranych nośników charakteryzujących się takimi cechami jak m.in. dostarczenie leku tylko do komórek nowotworowych, wydłużony czas uwalniania leku oraz ochrona leku przed szkodliwymi czynnikami. Wśród różnych nośników szczególne miejsce zajmują nano- i mikrocząstki z kapsułkowanymi chemioterapeutykami, które wykazują niską toksyczność w stosunku do zdrowych komórek i większą penetrację wewnątrz komórki, a także mogą ułatwić dostarczanie zwiększonej dawki leku do środowiska nowotworu, i co ważne dla pacjenta mogą zmniejszyć profil toksyczności wielu stosowanych już leków przeciwnowotworowych. Poza tym mogą być one wykorzystane do detekcji nowotworów co umożliwi wcześniejsze wykrycie zmian patologicznych oraz monitorowania skuteczności leczenia, a tym samym poprawy jego rokowania.

Biorąc powyższe fakty pod uwagę, uważam, że tematyka ocenianej dysertacji jest bardzo interesująca i ważna zarówno z poznawczego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Badania prowadzone przez mgr Weronikę Szczęsną-Górniak doskonale wpisują się w aktualny i ważny nurt badawczy, a ich podjęcie jest w pełni celowe i uzasadnione.

Podstawą przeprowadzenia przewodu doktorskiego mgr Weroniki Szczęsnej-Górniak jest dysertacja napisana w języku polskim, która liczy 187 stron maszynopisu. Tytuł dysertacji został sformułowany w sposób poprawny i odpowiada zakresowi tematycznemu oraz wynikom badań przedstawionym przez Doktorantkę w recenzowanej pracy. Układ rozprawy jest prawidłowy i typowy dla eksperymentalnych prac doktorskich. Rozprawa zawiera następujące sekcje: część teoretyczna, cele i założenia pracy, część eksperymentalna, dyskusja wyników,





wnioski, spis cytowanej literatury (244 pozycje) oraz załączniki. Oceniana dysertacja zawiera łącznie 24 tabele i 65 rysunków obejmujących zarówno schematy, zdjęcia uzyskane przy wykorzystaniu nowoczesnej aparatury badawczej, jak również wykresy obrazujące wyniki badań. Autorka zamieściła także streszczenie w języku polskim i angielskim oraz przedstawiła dotychczasowy dorobek naukowy.

Rozprawę doktorską rozpoczyna wprowadzenie w sposób spójny przybliżające tematykę pracy oraz postawione cele badawcze, po którym Doktorantka przechodzi do części teoretycznej, w moim odczuciu bardziej literaturowej. W tej części pracy podzielonej na pięć podrozdziałów i będącej interesującym wstępem do części eksperymentalnej Doktorantka przedstawiła aktualny stan wiedzy dotyczący zagadnień związanych z tematem Jej badań. Autorka scharakteryzowała w niej nano- i mikrocząstki hydrożelowe pod względem właściwości fizykochemicznych oraz opisała polisacharydy najczęściej stosowane do ich wytwarzania. Kolejno Doktorantka omówiła metody wykorzystywane do otrzymania nośników hydrożelowych i sposoby funkcjonalizacji ich powierzchni. Następnie zostały przedstawione właściwości wybranych polifenoli naturalnych (kurkumina, resweratrol, galusan epigallokatechiny) – ich budowa, struktura oraz aktywność biologiczna i prozdrowotna. Na uwagę zasługuje podrozdział, w którym Doktorantka poruszyła problemy natury farmaceutyczno-technologicznej związane z enkapsulacją substancji aktywnych w nośnikach i dostarczaniem leków do miejsc chorobowo zmienionych. Końcowy podrozdział dotyczy znaczenia prawidłowego planowania eksperymentu procesów technologicznych. Na podkreślenie zasługuje umieszczenie przez Doktorantkę w tej części rozprawy licznych schematów, które odznaczają się poglądowością, starannością i uatrakcyjniają czytanie pracy.

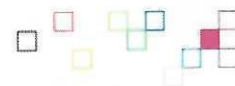
Analiza literaturowa przeprowadzona przez Doktorantkę pozwoliła Jej na sformułowanie kluczowego celu pracy jakim było opracowanie metodologii pozwalającej na otrzymanie nośników hydrożelowych (nano- i mikro-) o ściśle zdefiniowanych cechach użytkowych i funkcjonalności. Jako cele pośrednie Autorka wyznaczyła sobie: – dobór odpowiednich parametrów procesu otrzymywania nośników takich jak m.in. rozmiar nośnika, jego skład i struktura, przestrzeń załadunkowa czy czas połowicznego uwalniania leku; – enkapsulację związków bioaktywnych pochodzenia naturalnego w rdzeniu poprzez zastosowanie różnych metod; – funkcjonalizację rdzeni polimerowych oraz charakterystykę



fizykochemiczną i biologiczną otrzymanych nośników. Tak sformułowane cele pozwoliły na otrzymanie czterech typów nośników, które Doktorantka poddała dalszym szczegółowym badaniom.

Część doświadczalną pracy Autorka rozpoczęła wymienieniem zastosowanych odczynników i wykorzystanej aparatury, a następnie opisała syntezę czwartorzędowych soli amoniowych zmodyfikowanego poli(kwasu akrylowego), enkapsulację substancji pochodzenia naturalnego w rdzeniu polimerowym przy wykorzystaniu różnych metod oraz funkcjonalizację rdzeni polimerowych. Doktorantka scharakteryzowała także stosowane metody badawcze (NMR, FTIR, metody mikroskopowe, dynamiczne rozpraszanie światła, pomiar potencjału zeta, spektroskopia UV-Vis, mikrowaga kwarcowa z kontrolą dyssypacji energii, elipsometria spektroskopowa), opisała sposób określenia profilu uwalniania substancji aktywnych, test soli tetrazolowej i sulforodaminy B oraz metodę dyfuzyjno-krażkową.

Najważniejszą częścią dysertacji doktorskiej mającej charakter eksperymentalny jest opisany na 78 stronach maszynopisu rozdział „Dyskusja wyników”, który przedstawia obszerną analizę otrzymanych przez Doktorantkę wyników. Ich uzyskanie wymagało od Autorki ogromnego nakładu pracy i przeprowadzania wielu eksperymentów. Umożliwiło to ich wcześniejsze prawidłowe zaplanowanie, ustalenie kryteriów, według których otrzymany nośnik był oceniany oraz dobór odpowiednich parametrów procesu otrzymywania nośników. Otrzymane mikro- i nanonośniki hydrożelowe załadowane substancją bioaktywną (kurkumina, galusan epigallokatechiny, resweratrol) oraz mikronośniki z funkcją antyrodnoustrojową zostały scharakteryzowane pod względem fizykochemicznym (m.in. rozmiar cząstek, polidispersyjność, wydajność enkapsulacji, potencjał zeta, grubość filmu) oraz zdolności do uwalniania substancji aktywnej. Na tej podstawie Doktorantka wskazała nośniki, które najlepiej spełniają postawione wymagania. Mgr inż. Weronika Szczęsna-Górniak przeanalizowała również aktywność antynowotworową układów zawierających kurkuminę, galusan epigallokatechiny i resweratrol przejawiającą się ich wpływem na mitochondrialną funkcję metaboliczną oraz proliferację komórek raka pęcherza moczowego II stopnia. Z analizy tej wynikało, że otrzymane nośniki wykazują działanie cytotoksyczne i mogą wzmocnić działanie przeciwnowotworowe stosowanych już chemoterapeutyków.





Reasumując, za najważniejsze osiągnięcia Doktorantki przedstawione w recenzowanej dysertacji uważam:

- opracowanie nowego typu nano- i mikronośników hydrożelowych enkapsulowanych kurkumina, galusanem epigallokatechiny i resweratolem,
- opracowanie nowego typu polielektrolitów o różnym stopniu funkcjonalizacji pozwalających na uzyskanie odpowiedniej szybkości uwalniania związku enkapsulowanego,
- opracowanie mikronośników enkapsulowanych ekstraktem z owoców żurawiny wykazujących aktywność biologiczną wobec bakterii Gram-dodatniej (*Staphylococcus aureus*) i Gram-ujemnej (*Serratia marcescens*).

Analiza całości dysertacji pozwala mi na stwierdzenie, że badania przeprowadzone przez mgr inż. Weronikę Szczęsną-Górniak zostały dobrze zaplanowane, a właściwie przeprowadzone eksperymenty pozwoliły Autorce na uzyskanie interesujących wyników, które zostały wnikliwie przeanalizowane. Dyskusja uzyskanych wyników jest poprawna i dokładna, przedstawiona w sposób logiczny i zrozumiały dla czytelnika, i wskazuje, że mają one znaczący element nowości naukowej oraz pokazują, że założony cel pracy został w pełni zrealizowany.

Jednakże w trakcie czytania dysertacji mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak nasunęło mi się kilka uwag i sugestii:

- 1) Pomimo, że rozprawa doktorska mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak została bardzo starannie przygotowana pod względem edycyjnym i językowym Autorka nie uniknęła jednak drobnych błędów, np. str. 7: „*Sklonność cząstek do ...jest silnie zależny....*”; str. 10, 14, 99, 129 „*miedzy*”; str. 46: „*...związkiem biologicznie czynnych.....*”; str. 135: „*..... świadczące o skuteczniejszej adsorpcję ..*”; str. 142: „*...charakteryzują się dużą tendencją...*”
- 2) W niektórych zdaniach zdarzają się niepotrzebne powtórzenia, np. „chorób” str. 40 „*...chorób płuc, chorób wątroby, chorób autoimmunologicznych, chorób układu krążenia....*” lub „raka” str. 42 „*raka płuc, raka jajnika, raka piersi, raka pęcherza ..... raka trzustki ....*”
- 3) W kilku miejscach Autorka użyła w moim odczuciu niezbyt poprawnego sformułowania:  
str. 7: „*Struktura wewnętrzna tych cząstek może być homogeniczna i mieć jednorodny skład, bądź heterogeniczna i zawierać różny skład.*”  
str. 12: „*Ponadto, chitozan jest dostępny w różnych masach cząsteczkowych .....*”



str. 16: „...kompleksowanie polielektrolitów, polegające na oddziaływaniach elektrostatycznych ...”

str. 21: „Oddziaływania między dwiema różnymi cząsteczkami tworzą kompleksy .... „

str. 32: „Dekorowane w ten sposób polielektrolity ..... „

str. 68: „...w kuwetach składających się z dwóch miedzianych elektrod .... „

str. 113: „ ..... badań dotyczących układów koloidalnych, które również były otulone .... „

str. 140: „Ponadto, porównując zdolność do uwalniania wszystkich mikronośników .... „

- 4) Doktorantka niepotrzebnie zamieściła w dysertacji dwa razy stronę 64.
- 5) W części poświęconej metodom badawczym, Doktorantka zamieściła równania, które wykorzystała np. do wyznaczenia masy zaenkapsulowanej substancji aktywnej lub pojemności załadunkowej. Równania te nie zostały ponumerowane i zacytowane w części poświęconej dyskusji wyników.
- 6) W dyskusji wyników znalazły się również sformułowania, które budzą pewne wątpliwości i oczekuję, że podczas obrony Doktorantka podejmie dyskusję na ich temat:
- Jak Doktorantka tłumaczy fakt, że „cząstki o większej średnicy zapewniają lepszą ochronę substancji aktywnej, gdyż obszar, w którym powierzchnia nośnika jest w kontakcie z otaczającym go medium jest zredukowany”?
  - Co Doktorantka ma na myśli pisząc „silnych grup siarczanowych” (str. 13)?
  - Co Doktorantka rozumie przez „..... różne ugrupowania przeciwbakteryjne, które mogą być przyłączone za pomocą wiązań kowalencyjnych .....” (str. 32)?
  - Na stronie 43 Doktorantka pisze „Z kolei epimeryzacja następuje przy wysokich stężeniach roztworu .....” Jakie stężenia uważa Doktorantka za wysokie?
  - Z czego zdaniem Doktorantki wynika większy stopień uwodnienia filmu ALG niż CHIT?
  - Doktorantka w badaniach zastosowała Tween 80 i Span 80. Nie znalazłam ich w spisie odczynników podobnie jak innych związków stosowanych w syntezie czwartorzędowych soli amoniowych zmodyfikowanego poli(kwasu akrylowego). Czym Doktorantka kierowała się wybierając do swoich badań te surfaktanty, a nie np. Tween 20 i Span 20?
  - Na stronie 99 i 130 czytamy, że stabilność mikrocząstek była określana bezpośrednio po ich wytworzeniu i po 12 miesiącach. W jakich warunkach nośniki były przechowywane przez ten czas?





- Doktorantka podaje, że współczynnik polidispersyjności (PDI) świadczący o jednorodności badanych nośników powinien wynosić poniżej 0,3 dla nano-nośników i poniżej 1 dla mikronośników. Z czego wynikają różne wartości dla nano- i mikronośników?
- Doktorantka w dyskusji wyników używa określeń film, powłoka, warstwa. Np. na stronie 135: *”Wyniki analizy QCM-D dotyczące grubości i masy filmów polielektrolitowych, osadzonych na hydrożelowym rdzeniu załadowanym ekstraktem z owoców żurawiny pokazały, że niezależnie od struktury nakładanych warstw, grubość filmów wzrasta wraz z kolejną tworzoną powłoką. Film EOZ/ALG/(PAH/ALG)<sub>1,5</sub> był cieńszy (12,8 nm) niż film EOZ/ALG/(CHIT/ALG)<sub>1,5</sub> (15,2 nm). Porównując grubości powłok, jakie tworzy ALG i PAH, można zauważyć, że niezależnie od liczby nałożonych warstw, polielektrolity te tworzą filmy o zbliżonej grubości. .... Natomiast film EOZ/ALG/(CHIT/ALG)<sub>3,5</sub> miał grubość 19,1 nm i w przypadku tego rodzaju powłok CHIT tworzył grubsze warstwy niż ALG, niezależnie od liczby osadzonych filmów.”* Co Doktorantka w tym fragmencie rozumie przez film, powłokę i warstwę?

Chciałabym podkreślić, że wymienione powyżej uwagi i wątpliwości nie wpływają na moją ogólną pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak, ale miały jedynie zachęcić Doktorantkę do dyskusji w trakcie publicznej obrony.

Podsumowując, uważam że, ambitne cele jakie sobie Autorka postawiła zostały zrealizowane, a uzyskane wyniki mają wysoką wartość merytoryczną i wnoszą elementy nowości do aktualnego stanu wiedzy w dziedzinie nano- i mikronośników hydrożelowych przeznaczonych do przenoszenia substancji aktywnych pochodzenia naturalnego. Potwierdzeniem tego może być fakt, że część wyników prezentowanych przez Doktorantkę w dysertacji została przedstawiona w trzech artykułach opublikowanych w specjalistycznych czasopismach o światowym obiegu (*Advances in Colloid and Interface Sci.*, *Molecules*, *European Polymer Journal*) o łącznym współczynniku oddziaływania IF wynoszącym 25,663 i liczbie punktów MEiN 440 oraz jest podstawą artykułu przygotowywanego do publikacji. Doktorantka prezentowała swoje wyniki również na dwóch konferencjach krajowych i jednej międzynarodowej oraz jest współautorką zgłoszenia patentowego. Warto także zauważyć, że dotychczasowy całościowy dorobek naukowy mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak obejmuje współautorstwo w siedmiu opublikowanych artykułach, dwu przygotowanych do publikacji



oraz dwanaście doniesień konferencyjnych co może świadczyć o tym, że Doktorantka jest przygotowana do samodzielnej pracy naukowej.

Pragnę podkreślić, że badania przeprowadzone przez Doktorantkę mają również potencjał aplikacyjny w obszarze farmacji i medycyny, a uzyskane wyniki mogą być wykorzystane do opracowania nośników pozwalających na dostarczenie leku do miejsc chorobowo zmienionych w skutecznej dawce bez szkodliwego wpływu na komórki prawidłowe oraz być inspiracją do podjęcia dalszych badań mających na celu wyjaśnienie mechanizmów działania takich układów.

Na podstawie oceny rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak zatytułowanej „Nano- i mikrocząstki hydrożelowe z funkcjonalnymi filmami polielektrolitowymi jako nośniki substancji aktywnych pochodzenia naturalnego” jednoznacznie stwierdzam, że spełnia ona wymogi formalne wymienione w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Inżynierii Chemicznej Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak do dalszych etapów postępowania o nadanie Jej stopnia doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna. Jednocześnie biorąc pod uwagę aktualność tematyki podjętej w ramach przygotowywania rozprawy doktorskiej, jej poziom naukowy i znaczenie praktyczne wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Inżynierii Chemicznej Politechniki Wrocławskiej o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Weroniki Szczęsnej-Górniak.

Anna Łdziennicka

