

Dr hab. inż. Piotr Ładyżyński, prof. Instytutu
Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej
im. Macieja Nałęczu Polskiej Akademii Nauk
Ul. Ks. Trojdena 4, 02-109 Warszawa

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Tytuł rozprawy: *Komórkowy model farmakokinetyczny przeznaczony do testowania kierowanych nośników leków*

Autor rozprawy: Mgr inż. Kamila Szostak-Paluch

Promotor: Prof. dr hab. inż. Marek Langner
Promotor pomocniczy: Dr hab. inż. Magdalena Przybyło, prof. ucz.

Rozprawa doktorska mgr Kamili Szostak-Paluch dotyczy opracowywania i badania liposomowych postaci leków z wykorzystaniem nowoczesnych metod analitycznych i modeli komórkowych. Jest to tematyka nowoczesna i aktualna, a wyniki prac związanych z rozwojem nanonośników mogą znaleźć zastosowanie praktyczne i pozwolić na bardziej efektywne, kontrolowane i bezpieczne dostarczanie substancji aktywnych w miejsce ich docelowego działania w organizmie człowieka.

Celem rozprawy doktorskiej mgr Kamili Szostak-Paluch było rozwinięcie metodyki pozwalającej na powiązanie parametrów nanofarmaceutyków z ich efektywnością. Jest to cel sformułowany dość ogólnikowo, ale niewątpliwie badania naukowe prowadzone w tak określonym celu mogą posiadać walor nowości i oryginalności, a ich wyniki – praktycznej użyteczności. Przytoczony powyżej cel ogólny pracy Doktorantka uściśliła wymieniając następujące cele / zadania szczegółowe:

- „1. Określenie możliwości obniżenia, wynikającej z konieczności stosowania rozpuszczalników organicznych, toksyczności preparatów zawierających amfifilowe substancje czynne.
2. Określenie możliwości zwiększenia efektywności substancji czynnej farmakologicznie poprzez zmianę właściwości mechanicznych nano-farmaceutyku.
3. Określenie zasadności stosowania nano-farmaceutyków w celu zwiększenia biodostępności substancji hydrofilowych.”

Często w rozprawach doktorskich obok celu Doktoranci definiują również tezę pracy, tj. twierdzenie, którego słuszność mają wykazać przeprowadzone i opisane w rozprawie badania. W rozprawie mgr Kamili Szostak-Paluch słowo „teza” również się pojawia, ale tekst, który słowo to poprzedza, trudno uznać za postawioną świadomie tezę rozprawy więc uznaję, że rozprawa doktorska Doktorantki tezy nie zawiera.

Rozprawa doktorska mgr Kamili Szostak-Paluch ma formę dzieła zwartej, liczącego łącznie 181 stron. Rozprawa składa się w kolejności ze strony tytułowej, podziękowań, dedykacji, spisu publikacji i innych osiągnięć naukowych Doktorantki powiązanych z rozprawą doktorską oraz innych publikacji Jej współautorstwa, spisu skrótów używanych w rozprawie, spisu treści oraz 8 rozdziałów, z których ostatni zawiera bardzo obszerny, liczący 439 pozycji, spis piśmiennictwa.

W Rozdziale 1 Autorka przedstawiła krótkie, dwustronicowe streszczenia rozprawy w języku polskim i angielskim, a rozdziały od drugiego do siódmego stanowią zasadniczą część rozprawy.

Rozdział 2 zatytułowany *Wstęp* w początkowej części zawiera podstawowe dane na temat nanofarmaceutyków, w tym głównie liposomów, a także opis regulacji prawnych i standaryzacji badań nowych substancji leczniczych, w szczególności dotyczących cytotoksyczności oraz aktywności substancji przeciwdrobnoustrojowych. Następnie opisano metodę ilościową reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (qRT-PCR), wykorzystywaną w trakcie eksperymentów przedstawionych w dalszych rozdziałach rozprawy. W kolejnej części *Wstępu* znajduje się opis:

- endocytozy nanofarmaceutyków w komórkach eukariotycznych,
- budowy i działania środków przeciwbakteryjnych, ze szczególnym uwzględnieniem, wykorzystywanych przez Doktorantkę, chlorowodorku oktenidyny i diglukonianu chlorheksydydy,
- budowy i działania liposomowych nośników leków w terapii nowotworowej, w tym szczegółowa charakterystyka chlorowodorku doksorubicyny, w tym jej postaci liposomowej,
- żelaza jako niezbędnego mikroelementu w organizmie człowieka oraz anemii, tj. choroby będącej skutkiem jego niedoboru, a także metod suplementacji żelaza, w tym z wykorzystaniem jego preparatów liposomowych,
- wybranych aspektów stosowania linii komórkowych lub szczepów drobnoustrojów w badaniach *in vitro*,
- modeli komórkowych wykorzystywanych przez Doktorantkę w zaprezentowanych w pracy badaniach, w tym bazujących na komórkach prokariotycznych (*Escherichia Coli K1*) oraz eukariotycznych, tj. ludzkich nieśmiertelnych makrofagach (J744A.1) i liniach komórkowych raka piersi (MCF7 i SK-BR3), raka wątroby (HEP-G2 i SK-HEP-1) i raka jelita grubego (Caco-2).

Zakres tematyczny zaprezentowanych w Rozdziale 2 informacji wstępnych został w większości właściwie dobrany. Obszerne piśmiennictwo, na którym bazuje Doktorantka, świadczy o opanowaniu przez Nią umiejętności wyszukiwania, selekcjonowania i syntezy informacji zawartych w źródłach naukowych. Niekonsekwentne jest umieszczenie w tym rozdziale opisu części stosowanych przez Doktorantkę metod pomiarowych i testów, takich jak MTT, czy qRT-PCR, a pominięcie innych, np. *Western Blot* czy pomiar potencjału zeta albo rozkładu rozmiarów nanocząstek, które opisane są w Rozdziale 5, tj. moim zdaniem właściwszym do tego celu miejscu. Co więcej, metody opisane w Rozdziale 2 są ponownie prezentowane w Rozdziale 5. Dodatkowo, informacje zawarte w Podrozdziałach 2.9 i 2.10 można było połączyć, gdyż obydwa dotyczą zagadnień związanych z modelami komórkowymi w badaniach *in vitro*.

Rozdział 3 przedstawia, wspomniane wcześniej, cel i założenia pracy a Rozdział 4 rozpoczyna część dysertacji, w której mgr Kamila Szostak-Paluch prezentuje metodykę i wyniki własnych prac eksperymentalnych.

W Rozdziale 4 Doktorantka wymienia linie komórkowe oraz materiały i odczynniki wykorzystywane w przeprowadzonych badaniach. Tekst Rozdziału 4 podzielony jest za pomocą nagłówków na fragmenty dotyczące poszczególnych badań, które albo mają formę listy stosowanych materiałów i odczynników (np. w części „*Badania mikrobiologiczne*”) albo przedstawiają je w sposób bardziej opisowy (np. w części „*Real-time PCR i PCR*”). Uważam że w publikacji, która ma charakter rozprawy naukowej, a nie raportu z badań, właściwsza jest ta druga forma prezentacji.

W Rozdziale 5 mgr Kamila Szostak-Paluch przedstawiła metody wykorzystywane w trakcie przeprowadzonych eksperymentów. W rozdziale tym znalazły się opisy: metod pomiaru rozkładu wielkości cząstek i potencjału zeta, techniki ultrafiltracji, otrzymywania liposomów metodami suchego filmu i żelu lipidowego, metod hodowli komórek bakteryjnych i nowotworowych, metod określania aktywności przeciwdrobnoustrojowej oktenidyny lizosomalnej, metody oznaczania struktury nanoagregatu oktenidyna – lipid oraz określania typu oddziaływania oktenidyny i chlorheksydydy z błoną lipidową, symulacji metodą dynamiki molekularnej, metody pomiaru cytotoksyczności z wykorzystaniem testu MTT, metody analizy wnikania nano-nośnika do komórek nowotworowych, metody analizy mikroskopowych obrazów fluorescencyjnych w celu określenia kolokalizacji, metod oznaczania poziomu ekspresji genów oraz ekspresji białek kodowanych przez te geny, wpływających

na endocytozę i na zakończenie – metod oznaczania reaktywnych form tlenu w hodowlach komórek eukariotycznych. Większość metod opisanych w Rozdziale 5 zaprezentowano w rzetelny i szczegółowy sposób, co pozytywnie świadczy o warsztacie badawczym Doktorantki. Nieco bardziej ogólnikowo od innych przedstawiono opisy symulacji błony lipidowej z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych oraz analizy mikroskopowych obrazów fluorescencyjnych, zawarte odpowiednio w Podrozdziałach 5.10 i 5.13. Najważniejszym mankamentem tej części pracy jest brak w niej czytelnego opisu planu badań, których wyniki zawarto w Rozdziale 6, a także brak informacji na temat parametrów wykorzystywanych do prezentacji wyników (np. wartość średnia i odchylenie standardowe czy mediana i przedział międzykwartylowy). Na podstawie zawartości Rozdziału 5 można przypuszczać, że Doktorantka lepiej odnajduje się w laboratorium „mokrym” niż w symulacjach komputerowych i statystycznej obróbce wyników.

Najważniejszym, z punktu widzenia oceny indywidualnych dokonań naukowych Doktorantki, fragmentem rozprawy jest liczący 66 stron Rozdział 6, w którym zawarto opis wyników wykonanych eksperymentów. Rozdział 6 rozpoczyna część poświęconą badaniu właściwości liposomowych preparatów oktenidyny, w której przedstawiono wyniki badania nanoagregatu oktenidyna – lipid z zastosowaniem metody dynamicznego rozpraszania światła, zbadano, zgodnie z właściwą normą, potencjał antyseptyczny liposomowej formy oktenidyny oraz scharakteryzowano oddziaływanie oktenidyny i chlorheksydyny z błoną lipidową na podstawie zmian potencjału zeta, wyników badania z wykorzystaniem sond fluorescencyjnych DPH i TMA-DPH oraz wyników symulacji za pomocą narzędzi bioinformatycznych. Druga część Rozdziału 6 zawiera wyniki eksperymentów mających na celu przygotowanie i scharakteryzowanie liposomowej postaci doksorubicyny. Liposomy z zamkniętą heparyną otrzymano w kilku wariantach metodą żelu lipidowego, a następnie scharakteryzowano pod względem składu, wielkości i potencjału zeta. W opracowanych liposomach zamykano doksorubicynę, a wydajność zamknięcia analizowano wykorzystując technikę ultrafiltracji. W Podrozdziale 6.3 Doktorantka przedstawiła wyniki dotyczące uzyskanych liposomowych postaci soli żelaza. Podobnie jak w dwóch poprzednich podrozdziałach mgr Kamila Szostak-Paluch scharakteryzowała rozmiar i jednorodność populacji liposomów wykorzystując metodę dynamicznego rozpraszania światła, a następnie określiła wydajność zamykania żelaza, stosując metodę spektrofotometryczną z wykorzystaniem barwnika Ferene-S. Ten podrozdział kończy opis wyników dotyczących wytwarzania liposomowych postaci wybranych przez Doktorantkę substancji. W kolejnej części Rozdziału 6 Doktorantka poddała analizie proces endocytozy liposomowych postaci leków. Objęła ona jakościową ocenę procesu internalizacji liposomów znakowanych fluorescencyjnie przez makrofagi linii J744A.1 i komórki raka piersi SK-BR-3 z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej, a także kompleksową analizę endocytozy liposomowej postaci doksorubicyny przez komórki raka wątroby linii HEP-G2 i SK-HEP-1 z zastosowaniem technik RT-PCR i *Western Blot*. Ostatni fragment Rozdziału 6 prezentuje wyniki badań na temat cytotoksyczności liposomowych postaci leków. Rozpoczyna go część poświęconą cytotoksyczności liposomowej postaci doksorubicyny na komórki raka piersi linii SK-BR-3 i MCF-7 oraz komórki raka wątroby linii HEP-G2 i SK-HEP-1. Następnie przedstawione są wyniki dotyczące cytotoksyczności liposomowej postaci soli żelaza na komórki raka jelita grubego linii Caco-2. W tym przypadku Doktorantka posłużyła się testem MTT oraz przeanalizowała wpływ badanych liposomów na powstawania reaktywnych form tlenu.

W Rozdziale 7 Doktorantka podsumowała wyniki przeprowadzonych badań oraz sformułowała 9 wniosków.

Rozprawa doktorska mgr Kamili Szostak-Paluch ma charakter eksperymentalny bez elementu konstrukcyjnego i z ograniczonym wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych. Przeprowadzenie doświadczeń opisanych w rozprawie wymagało od Doktorantki opanowania wiedzy z kilku obszarów tematycznych takich jak: inżynieria biomedyczna, chemia, biologia, fizyka oraz medycyny. Na uznanie zasługuje różnorodność przeprowadzonych analiz i wykorzystanych laboratoryjnych technik pomiarowych. Badania opisane w rozprawie pozwoliły Doktorantce na opanowanie wiedzy teoretycznej i zdobycie praktycznych umiejętności z zakresu opracowywania liposomowych postaci leków,

przewodzenia hodowli komórkowych, posługiwania się różnorodnymi technikami pomiarowymi, ale również wykorzystywania technik biologii molekularnej czy analizy obrazów mikroskopowych, co powinno ułatwić Jej dalszy rozwój naukowy.

Oceniając zawartość rozdziałów rozprawy, zawierających opis wyników prac własnych mgr Kamili Szostak-Paluch za najważniejsze osiągnięcia Doktorantki uznaję:

- uzyskanie i scharakteryzowanie postaci lipidowej chlorowodorku oktenidyny o właściwościach zbliżonych do preparatu komercyjnego Octenicept®, ale pozbawionej jego wady w postaci efektu drażniącego,
- uzyskanie, z wykorzystaniem metody żelu lipidowego, wysokiej wydajności zamykania w liposomach substancji czynnych, tj. doksorubicyny i kompleksu żelaza III z poliizomaltozą,
- uzyskanie lepszego efektu cytotoksycznego w przypadku liposomów z doksorubicyną wykrytalizowaną na heparynie w porównaniu z komercyjnym preparatem Caelyx® oraz uzyskanie obniżonej cytotoksyczności w przypadku nanonośnika z solami żelaza, co wskazuje na wyższość pod tym względem preparatów liposomowych nad tradycyjnymi,
- wykazanie, że zmiany strukturalne części wewnętrznej uzyskanych nanostruktur wpływa na ich cytotoksyczność i efektywność dostarczania do komórek oraz zbadanie mechanizmów endocytozy liposomów przez modele komórkowe.

Podczas lektury rozprawy doktorskiej mgr Kamili Szostak-Paluch nasunęły mi się następujące uwagi i pytania:

1. Tytuł rozprawy został sformułowany niefortunny i nie odzwierciedla właściwie zawartości pracy. Tytuł rozprawy sugeruje, że przedmiotem pracy Doktorantki był „komórkowy model farmakokinetyczny”. Tymczasem z zawartości pracy wynika, że model komórkowy był tylko jednym z narzędzi używanych przez Doktorantkę w celu badania opracowywanych przez Nią liposomowych postaci kilku leków. Można nawet stwierdzić, że Doktorantka wykorzystywała nie jeden, a kilka modeli komórkowych. Niezrozumiałe jest również użycie słowa „farmakokinetyczny” w tytule rozprawy. Definiując cel pracy Doktorantka pisze: „Przyjęto, że efektywność nano-farmaceutyków będzie oceniana na podstawie powszechnie stosowanych parametrów farmakokinetycznych takich jak: stabilność, wydajność czy cytotoksyczność”. Niestety wymienione wielkości nie są powszechnie stosowanymi parametrami farmakokinetycznymi, a jeden z nich, tj. cytotoksyczność, z całą pewnością nie jest parametrem farmakokinetycznym.
2. W rozprawie nie przeprowadzono żadnej analizy statystycznej uzyskanych wyników, co obniża wiarygodność prezentowanych w niej wniosków.
3. Szczegółowe pytania i uwagi dotyczące przeprowadzonych eksperymentów przedstawionych wyników:
 - a) Na str. 75 stwierdzono, że: „Badania porównawcze prowadzone były z wykorzystaniem tego samego numeru pasażu komórek”, ale numer pasażu nie został podany.
 - b) W opisie w Podrozdziale 5.9 podano, że liposomy traktowano roztworem chlorowodorku oktenidyny lub diglukonianu chlorheksydyny w stosunku molowym *lipid:związek* wynoszącym 0, 1/4, 1, 2, 4 i 10, ale w Podrozdziale 6.1.3, opisującym wyniki eksperymentów, pojawiają się wyniki dla pięciu proporcji *lipid:związek* i dodatkowo podawane są one jako proporcje *związek:lipid*. Jaka jest przyczyna tej rozbieżności?
 - c) Na str. 83 wzór dotyczący współczynnika korelacji Persony (r) jest błędny, a we wzorze dotyczącym współczynnika Mandersa brakuje informacji, na jakiej podstawie stwierdza się, że wystąpiła kolokalizacja.
 - d) Na str. 108 Doktorantka napisała, że: „Początkowo cząsteczki analizowanego związku są luźno umieszczone w układzie, przy czym praktycznie od samego początku jedna z molekuł wchodzi do błony lipidowej”. Nasuwają się następujące pytania: Co decyduje o początkowym ułożeniu molekuł – czy nie jest to parametr ustalany losowo albo będący pod kontrolą

- eksperymentatora?, Czy symulację opisaną w tej części pracy wykonano tylko raz czy powtórzono ją wielokrotnie dla różnych warunków początkowych?
- e) W Podrozdziale 6.3.2 nie wyjaśniono czym są próbki P1, P2, P3, P4 i K.
 - f) W Podrozdziale 6.4 zaprezentowano jedynie przykładowe obrazy mikroskopowe uzyskane w trybie transmisyjnym i fluorescencyjnym. Brakuje w tej części rozprawy próby bardziej miarodajnej, uśrednionej oceny uzyskanych wyników, np. poprzez ocenę rozkładu wartości współczynników r , M1 i M2 na podstawie ich wartości wyznaczonych w większej grupie obrazów mikroskopowych lub komórek zidentyfikowanych na tych obrazach.
 - g) We wzorze na str. 149 nie zostało objaśnione znaczenie poszczególnych symboli.
 - h) Jeden z wniosków zaprezentowanych w Rozdziale 7 dotyczy efektywności dostarczania substancji aktywnej za pomocą liposomów o sztywnej strukturze wewnętrznej do komórek zwierzęcych, podczas gdy Doktorantka nie wykonywała żadnych eksperymentów z wykorzystaniem komórek zwierzęcych.
4. Wartości liczbowe prezentowane w tabelach są zbyt szczegółowe. Podawanie wyników pojedynczych pomiarów można uznać za uzasadnione w roboczym raporcie z badań, ale w rozprawie doktorskiej wyniki powinny być prezentowane w sposób syntetyczny. Rozprawa zyskałaby na przejrzystości, gdyby większość tabel została zastąpiona odpowiednimi wykresami lub uproszczona (tabele z wynikami dotyczącymi poszczególnych próbek można było ewentualnie umieścić w załącznikach). Dodatkowo, przy raportowaniu danych liczbowych należało wziąć pod uwagę, jaka była powtarzalność wyników, np. jeżeli odchylenie standardowe wynosi 0,474 a wartość średnia 134,749, to taki wynik powinien być podany jako $134,7 \pm 0,5$ a nie: $134,749 \pm 0,474$.
 5. W rozprawie używane są niestandardowe oznaczenia / nazwy parametrów rozkładu wyników z próby, tzn. odchylenie standardowe z próby, które zwykle w pracach naukowych oznaczane jest jako SD (od ang. *standard deviation*) w rozprawie oznaczone jest symbolem σ , który używany jest do oznaczania odchylenia standardowego z populacji (wyrażonego innym wzorem niż SD); współczynnik zmienności, który oznaczany jest zwykle jako CV (od ang. *coefficient of variation*) lub rzadziej – jako RSD (od ang. *relative standard deviation*), w pracy oznaczany jest symbolem Δ i nazywany błędem względnym.
 6. Na rysunkach i wykresach brakuje wyjaśnienia, jaki parametr oznaczają słupki błędów (np. Wykresy 1-3).
 7. Tekst na str. 161 jest raczej dyskusją uzyskanych wyników niż ich podsumowaniem i w związku z tym powinien znaleźć się w Rozdziale 6.

Rozprawa napisana jest zrozumiałym i na ogół zwięzłym językiem. Kilka razy Doktorantce zdarza się użyć nazbyt ogólnikowych stwierdzeń, np. „*Głównym problemem współczesnego świata jest wzrastająca oporność drobnoustrojów*” lub sformułowań, które zwykle w rozprawach naukowych nie są używane, np. „*kiepskimi rokowaniami*”. Niestety, struktura rozprawy utrudnia jej lekturę i wskazane byłoby jej zmodyfikowanie, aby odzwierciedlała podział, który Doktorantka przedstawiła w *Streszczeniu*, gdzie wyróżniono trzy części rozprawy: pierwszą – poświęconą wytworzeniu i badaniu przygotowanego na bazie lipidu preparatu chlorowodorku oktenidyny, drugą – w której opracowano i poddano badaniu liposomową postać doksorubicyny i trzecią – dotyczącą wytworzenia i badania preparatów liposomowych na bazie soli żelaza. Rozprawa bardzo zyskałaby na czytelności, gdyby została podzielona na trzy wymienione wyżej części z ewentualnym wspólnym wprowadzeniem i opisem materiałów i metod wykorzystywanych w kilku z tych trzech części. Natomiast w *Streszczeniu* nie zostały przedstawione cel oraz wnioski płynące z prezentowanej rozprawy.

W trakcie czytania rozprawy mgr Kamili Szostak-Paluch zauważyłem kilka błędów redakcyjnych, stylistycznych, interpunkcyjnych i pomyłek merytorycznych, które (prócz błędów interpunkcyjnych i literówek) wymieniam poniżej:

- brak wielu skrótów w spisie skrótów używanych w pracy, np. siRNA, MIC, MRSA, EPR, ATP, ECACC, ATCC, TAM, PME, IC₅₀, cDNA, $\Delta\Delta C$, ELSD, HCC;

- użycie zbyt małych liter w opisach osi na wykresach, co utrudnia albo uniemożliwia ich odczytanie,
- niekonsekwentne używanie skrótów i oznaczeń, np. używanie kilku alternatywnych nazw dla RT-PCR czy wprowadzenie w Rozdziale 5 oznaczeń M_R i M_G dla współczynników Mandersa, po czym użycie symboli M1 i M2 do oznaczenia tych samych współczynników w Rozdziale 6;
- używanie alternatywnie dwóch skrótów do określenia niektórych pojęć, co obniża czytelność pracy, nawet jeśli oba skróty są zdefiniowane w spisie, np. EMEM i MEM, PC90G i PC albo Pdl i PDI;
- użycie w wielu miejscach rozprawy sformułowania „w oparciu o” zamiast „opierając się na” lub „na podstawie” w odniesieniu do pojęć abstrakcyjnych. Sformułowanie „w oparciu o” powstało z konstrukcji „opierając się o coś”, która odnosi się do czynności / zjawisk fizycznych, np. „oprzeć się o ścianę”, a nie abstrakcyjnych, np. „w oparciu o badania”;
- używanie przemiennie znaku przecinka lub kropki jako separatora dziesiętnego w liczbach;
- częste używanie kalek z języka angielskiego, np. „zeta potencjał” zamiast „potencjał zeta”, sformułowanie „bardzo popularna” w odniesieniu do „anemii”, „formulacja” – słowo to nie istnieje w języku polskim, „pozytywnie naładowanych” zamiast „dodatnio naładowanych”, „chorób chronicznych” zamiast „chorób przewlekłych”, „W celu determinacji rozkładu” zamiast „W celu określenia / wyznaczenia rozkładu”, „totalny” zamiast „całkowity”, „dystrybucja” zamiast „rozkład”;
- użycie sformułowania: „dokumenty znormalizowane” zamiast „dokumenty normatywne” (str. 25);
- używanie słowa „ilość” zamiast „liczba” w odniesieniu do elementów policzalnych, np. komórek (np. str. 26);
- umieszczenie podtytułu na końcu strony (str. 45) oraz przenoszenie podpisów pod rysunkami między stronami (np. Rys. 16 lub Rys. 22);
- nazwanie ludzkich linii komórkowych – zwierzęcymi (str. 63);
- użycie słowa „prędkość” zamiast „szybkość” w odniesieniu do dyfuzji (prędkość jest wektorową wielkością fizyczną wyrażającą zmianę wektora położenia w jednostce czasu) (str. 68);
- podawanie na str. 74 trzykrotnie tych samych informacji dotyczących mediów używanych do hodowli komórek z poszczególnych linii komórkowych, co w sposób nieuzasadniony wydłuża opis;
- powtórzenie na str. 79 informacji podanych wcześniej na str. 74;
- umieszczenie Tabeli 7 zawierającej informacje dotyczące materiałów w Rozdziale 5 dotyczącym metod;
- umieszczenie informacji wprowadzających, które powinny znaleźć się w Rozdziale 2, w Rozdziale 6 (str. 91);
- niewłaściwy opis Rys. 11 – w panelu po prawej stronie oś rzędnych powinna zostać opisana jako „Współczynnik korelacji” a nie „funkcja korelacji” (ta sama uwaga dotyczy pozostałych rysunków, na których umieszczono analogiczne wykresy); tytuł wykresu powinien zaczynać się od słowa „Charakterystyka” a nie „Charakteryzacja”;
- stosowanie dwóch nazw dla rysunków – część z nich została nazwana „Rysunek” a inne „Wykres”, bez łatwo uchwytej przyczyny;
- niewłaściwy opis Rys. 18 – napisano, że panele po lewej stronie przedstawiają „krzywe zależności dystrybucji rozmiarów analizowanych cząstek w funkcji względnej intensywności światła rozproszonego na tych cząstkach”, podczas gdy w rzeczywistości wykresy przedstawiają wartości względnej intensywności w funkcji rozmiaru cząstek;
- podawanie nadmiarowych informacji w Tabelach - wiele Tabel można by uprościć usuwając z nich kolumny, w których dla każdego wiersza podawana jest ta sama wartość, np. kolumna „T” w Tabelach 13, 14, 15, 17.

Powyższe zastrzeżenia merytoryczne oraz obecne w pracy błędy redakcyjne obniżają moją ocenę rozprawy, ale bardziej w odniesieniu do sposobu prezentowania wyników niż do jej zawartości merytorycznej. Mimo powyższych zastrzeżeń, wysoko oceniam jakość przeprowadzonych przez Doktorantkę badań i uważam, że wniosła ona oryginalny wkład w rozwój badań nad liposomowymi postaciami leków. Dodatkowym atutem pracy jest potencjał aplikacyjny uzyskanych wyników.

Na zakończenie warto podkreślić, że Doktorantka kierowała projektem badawczym w ramach programu NCN PRELUDIUM 13, jest laureatką *Polskiej Nagrody Inteligentnego Rozwoju 2020* w kategorii *Naukowiec przyszłości* oraz posiada rozpoznawalny dorobek publikacyjny. Dwa artykuły naukowe, których Doktorantka jest współautorem (odpowiednio drugim spośród siedmiu i pierwszym spośród pięciu) ukazały się w *Bioorganic & Medicinal Chemistry* oraz *Journal of Liposome Research*. Aktualne wartości Współczynnika Wpływu (IF) w bazie *Journal Citation Reports* dla tych czasopism wynoszą odpowiednio 3,073 i 2,455. Dorobek Doktorantki powiązany z tematyką rozprawy doktorskiej uzupełnia współautorstwo referatu w materiałach konferencyjnych z VI Sympozjum pt. „*Współczesna myśl techniczna w naukach medycznych i biologicznych*”, które odbyło się w 2015 r. Mgr Kamila Szostak-Paluch jest również trzecim spośród ośmiu współautorów w artykule, który ukazał się w *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* (IF = 3,411) oraz ostatnim współautorem spośród sześciu w artykule z czasopisma *International Journal of Biological Macromolecules* (IF = 5,162).

Podsumowując, stwierdzam na podstawie przeprowadzonej oceny, że rozprawa doktorska mgr Kamili Szostak-Paluch pt. „*Komórkowy model farmakokinetyczny przeznaczony do testowania kierowanych nośników leków*” stanowi oryginalne rozwiązanie zagadnienia naukowego, wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w dyscyplinie inżynieria biomedyczna oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia przez Doktorantkę pracy naukowej, a tym samym spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668, z późn. zm.). W związku z tym, wnioskuję o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

P. Kadziyński