

Beata Łuszczynska  
Katedra Fizyki Molekularnej  
Politechnika Łódzka  
90-924 Łódź  
ul. Żeromskiego 116

Łódź, 09. 10. 2023

**Recenzja pracy doktorskiej pana mgr inż. Jakuba Jagielskiego pt.:**  
**„Lipidowe nanocząstki ciekłokrystaliczne jako potencjalne systemy do**  
**obrazowania i dostarczania leków”**

wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Mikołaja Pochylskiego, prof. UAM- promotora

oraz

dr Grzegorza Nowaczyka-promotora pomocniczego,

w Centrum NanoBioMedycznym w ramach grantu Sonata Bis Narodowego Centrum  
Nauki, pt.:”Kubosomy-nanocząstki ciekłokrystaliczne jako potencjalne systemy do  
bioobrazowania” UMO-2016/22/E/ST3/00458

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Jakuba Jagielskiego dotyczy badań właściwości fizykochemicznych lipidowych nanocząstek ciekłokrystalicznych w celu oceny ich przydatności do zastosowania w bioobrazowaniu oraz wykorzystania ich jako systemów dostarczania leków. Podjęte w ramach pracy doktorskiej badania wpisują się jak najbardziej w aktualny trend badań nad charakteryzacją nanomateriałów, obejmującą także ich wpływ na żywe komórki i tkanki. Z uwagi na potencjalne zastosowanie lipidowych nanocząstek ciekłokrystalicznych w terapiach celowych, w leczeniu nowotworów, podjęty temat pracy doktorskiej jest także bardzo ważny społecznie, w obliczu najnowszego raportu Krajowego Rejestru Nowotworów w Polsce, donoszącego o ponad 171 tys. nowych zachorowaniach na nowotwory rocznie.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pana mgr inż. Jakuba Jagielskiego ma układ klasyczny. Praca liczy, wraz ze spisem cytowanej literatury oraz spisem rycin i aneksem, 179 stron; tekst został podzielony na 6 głównych rozdziałów (nie uwzględniając bibliografii i aneksu). W pierwszym rozdziale Autor zawarł kluczowe informacje dotyczące stanu wiedzy z zakresu wykorzystania

nanotechnologii w opracowywaniu nośników leków oraz potencjale lipidowych nanocząstek ciekłokrystalicznych do tego typu zastosowań. Drugi rozdział, liczący 53 strony, poświęcony jest przeglądowi literatury na temat lipidowych nanocząstek ciekłokrystalicznych, biologii lipidów oraz opisowi metod stosowanych do charakteryzacji właściwości fizykochemicznych nanocząstek, a także badań ich cytotoksyczności. W trzeciej części pracy Doktorant formułował główne cele swojej pracy. Czwarty rozdział pracy stanowi opis przeprowadzonej przez Autora syntezy nanocząstek oraz analizy właściwości cytotoksycznych badanych nanocząstek. Rozprawę zamykają: rozdział piąty prezentujący otrzymane wyniki wraz z ich dyskusją oraz wnioski (rozdział szósty rozprawy). Ogólnie dobrze oceniam rozprawę od strony redakcyjnej; tekst jest napisany płynnym językiem oraz czyta się go z zainteresowaniem. Niektóre rysunki zamieszczone w pracy mogłyby być większe, jak np. ryciny numer 106 i 107. Dane zawarte na tych rycinach są praktycznie nieczytelne.

Trzy pierwsze podrozdziały przeglądu literaturowego mają w dużej mierze charakter podręcznikowy, tzn. zebrane są w nich podstawowe wiadomości dotyczące materiałów wykorzystywanych do syntezy ciekłokrystalicznych nanocząstek lipidowych oraz metod ich syntezy. Autor poświęcił także dużo uwagi prezentując szczegółowo opis metod mikroskopowych i spektroskopowych stosowanych do charakteryzacji tego typu układów. Ostatni podrozdział pracy prezentuje podejście do procesu optymalizacji warunków syntezy lipidowych nanocząstek ciekłokrystalicznych w oparciu o przyjęty dwupoziomowy plan czynnikowy, który został następnie rozszerzony do centralnego planu kompozycyjnego.

Ogólnie część literaturowa zasługuje na bardzo dobrą ocenę, gdyż Autor dokonał wyczerpującego przeglądu literaturowego, obejmującego dwieście osiemdziesiąt cztery pozycje literaturowe i wykazał się szeroką wiedzą dotyczącą zarówno materiałów stosowanych do syntezy lipidowych nanocząstek oraz technik badawczych stosowanych do pełnej charakteryzacji nanocząstek pod kątem ich zastosowania jako potencjalnych systemów nośników leków.

Rozdział piąty zatytułowany „Wyniki i Dyskusja” zawiera dwa główne podrozdziały. Pierwszy podrozdział (5.1) prezentuje syntezę nanocząstek. Na potrzeby swoich badań doktorant zsyntezował nanocząstki oparte na dwóch lipidach

monooleinianie glicerolu i fitantriolu. W ramach pracy określano stabilność nanocząstek poprzez ocenę stałości wartości średnicy hydrodynamicznej w czasie. Otrzymane materiały wykazywały stabilność w okresie 60 dni od ich syntezy. Warto byłoby tutaj podać warunki przechowywania nanocząstek, a mianowicie: w jakiej temperaturze były przechowywane? Czy były wystawiane na działanie światła i tlenu. Brak jest również informacji na temat rekomendowanych warunków przechowywania nanocząstek lipidowych w celu wydłużenia okresu ich stabilności. Podrozdział 5.1 prezentuje także analizę strukturalną otrzymanych nanocząstek lipidowych oraz obrazy otrzymanych struktur przy użyciu kriogenicznej transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Przeprowadzone badania pozwoliły Doktorantowi na sformułowanie wniosku, że lepszymi nośnikami leków i środków kontrastujących są układy oparte na monooleinianie glicerolu, które posiadają więcej przestrzeni do potencjalnej inkorporacji leku lub środka kontrastującego.

W podrozdziale 5.1.5 Autor opisał proces optymalizacji warunków syntezy nowych lipidowych nanocząstek ciekłokrystalicznych opartych na monooleinianie glicerolu domieszkowanych monolaurynianem glicerolu. Pomiarów średnicy hydrodynamicznej układów monooleinian glicerolu/ monolaurynian glicerolu posłużyły do wyznaczenia: wzoru opisującego zmianę średnicy (wzór nr 60) i wzoru opisującego zmianę współczynnika polidispersyjności (wzór 61) w funkcji masy monolaurynianu glicerolu i monooleinianu glicerolu. Na rycinach numer 50 i 55 Autor pokazał odpowiednio interakcję pomiędzy masą monooleinianu glicerolu oraz masą Pluronic 127 na przewidywaną średnicę hydrodynamiczną nanocząstek i ich polidispersyjność. Na wykresach zostały zaznaczone odpowiednio po dwa punkty połączone krzywą. Czy jest to tylko oznaczenie graficzne? Tak przedstawione wykresy wyglądają jak połączenie dwóch punktów za pomocą krzywych.

W podrozdziale 5.2 zostały zaprezentowane badania cytotoksyczności badanych nanocząstek lipidowych na ludzkie komórki raka szyjki macicy HeLa i ludzkie prawidłowe fibroblasty MSU 1.1. Przeprowadzona analiza pozwoliła Doktorantowi stwierdzić, że wyższą cytotoksyczność wykazują nanocząstki oparte na fitantriolu niż nanocząstki oparte na monooleinianie glicerolu. Ciekawymi aspektami pracy są rozszerzenie badań cytotoksyczności o test wykonany na trójwymiarowych sferoidach komórek HeLa, które są dobrym modelem guzów litych *in vitro*, a także

podjęte próby określenia mechanizmu cytotoksyczności badanych nanocząstek na podstawie badania poziomu reaktywnych form tlenu. Na podstawie własnych wyników oraz doniesień literaturowych Doktorant słusznie zauważył, że potencjalnym źródłem cytotoksyczności może być również użyty surfaktant. Nasuwa się tu potrzeba sprawdzenia wpływu oddziaływania samego surfaktantu na żywe komórki. Czy takie badania były robione przez Doktoranta?

Istotnym aspektem pracy doktorskiej mgr inż. Jakuba Jagielskiego są również badania właściwości antybakteryjnych układów monooleinian glicerolu/ monolaurynian glicerolu, przeprowadzone na bakteriach Gram-ujemnych *Escherichia coli* oraz Gram-dodatnich *Staphylococcus aureus*. W celu określenia właściwości antybakteryjnych badanych układów wykorzystano metodę spektrofotometryczną wyznaczając zmiany gęstości optycznej OD<sub>620</sub> w czasie. Na podstawie otrzymanych Wyników Doktorant stwierdził, że obecność monolaurynianu glicerolu w badanych układach zapewnia ich działanie antybakteryjne, oparte na powodowaniu zmian w płynności błon bakteryjnych, prowadząc do ich zniszczenia. Badane przez Doktoranta układy monooleinianu glicerolu i monolaurynianu glicerolu mogą być potencjalnie wykorzystane jako nośniki antybiotyków. Tego rodzaju podejście, jak słusznie zauważył Autor pozwoliłoby na uzyskanie synergicznego działania antybakteryjnego tego rodzaju systemów. Przeprowadzone przez Doktoranta badania są bardzo ważne, z punktu widzenia rosnącego zagrożenia coraz częstszego problemu z pojawianiem się zakażeń wywoływanych przez antybiotykooporne bakterie.

Szósty rozdział pracy doktorskiej stanowią wnioski, które w mojej ocenie są raczej podsumowaniem uzyskanych wyników. Trochę brakuje mi tutaj przedstawienia w punktach ogólnych wniosków, które mogłyby być swego rodzaju przewodnikiem sugerującym optymalne warunki syntezy lipidowych nanocząstek ciekłokrystalicznych, wytycznych dotyczących ich rozmiarów i struktur do zastosowań jako nośniki leków czy układy bakteriobójcze.

W podsumowaniu recenzji chcę podkreślić ogólnie wysoki poziom badań przeprowadzonych przez pana mgr inż. Jakuba Jagielskiego oraz duży nakład systematycznych prac eksperymentalnych jaki wykonał Doktorant w swojej pracy, prowadząc szeroko zakrojoną ocenę cytotoksyczności i właściwości bakteriobójczych badanych układów. Należy także podkreślić i docenić

interdyscyplinarny charakter pracy doktorskiej Pana mgr inż. Jakuba Jagielskiego, która obejmuje wybrane aspekty chemii, nanotechnologii, mikrobiologii, a także statystyki matematycznej.

Chciałabym zaznaczyć, że nieliczne uwagi krytyczne zawarte w mojej recenzji mają charakter dyskusyjny i w niczym nie umniejszają mojej bardzo dobrej oceny przedłożonej mi do recenzji pracy doktorskiej. Stwierdzam, że rozprawa Pana mgr inż. Jakuba Jagielskiego pt.: „Lipidowe nanocząstki ciekłokrystaliczne jako potencjalne systemy do obrazowania i dostarczania leków” spełnia wymagania formalne stawiane pracom doktorskim określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Wniosuję zatem do Rady Naukowej Wydziału Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Pana mgr inż. Jakuba Jagielskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Beata Łuszczynska*

*Dr hab. inż. Beata Łuszczynska, profesor uczelni*