



Zakład Chemii Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin
tel. 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl

Department of Medical
Chemistry
Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Poland
Phone +48 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl



Recenzja rozprawy doktorskiej Pana **lek. Konrada Michała Wróbla**
pt. „*Zmodyfikowane dendrymery PAMAM jako skuteczne systemy transportu leków
przeciwnowotworowych*”

przygotowanej w postępowaniu o nadanie stopnia
doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne.

Promotorem dysertacji jest Prof. dr hab. inż. Stanisław Wołowicz

Wstęp

Nowotwory złośliwe stanowią heterogenną grupę chorób których wspólnym czynnikiem jest zaburzenie procesu apoptozy i proliferacji komórek prowadzące do przewagi sygnałów stymulujących proliferację. Wspomniana heterogenność jest cechą niezwykle utrudniającą dobranie właściwego leczenia w konkretnym typie nowotworu, posiadającego zarówno inną patogenezę, immunologię jak i oporność na chemio lub radioterapię. I choć wiele nowotworów jest coraz lepiej poznanych od strony molekularnej, stosowane sposoby terapeutyczne są w wielu przypadkach daleki od oczekiwań. Dlatego też każdy sensowny sposób leczenia, który pojawia się na horyzoncie nauki jest warty eksploracji. Obiecującymi sposobami terapii są nowe sposoby transportu leków, w tym dendrymery, ułatwiające penetrację substancji czynnej do komórek nowotworowych, zapewniające ochronę przed degradacją enzymatyczną oraz ułatwiające przekraczanie barier biologicznych takich, jak bariera krew-mózg. Spośród wymienionych systemów dendrymery poliamidoaminowe (PAMAM) służące do dostarczania zarówno leków jak i cząsteczek adresujących, wydają się bardzo interesujące ze względu na ich korzystne właściwości farmakokinetyczne. Dlatego też podjęcie się przez Doktoranta badań nad dendrymerami PAMAM jest w pełni uzasadnione i wartościowe.

Ocena formalna dysertacji

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska składa się z 181 stron, z których większość (od str 73 do końca) stanowią kopie artykułów oraz oświadczenia współautorów o wkładzie w powstawanie publikacji. Pierwsza część dysertacji (do strony 72) ma typowy układ dla tego typu prac; jest podzielona na Wykaz skrótów, rycin i tabel, Wstęp, Obecny stan wiedzy, Hipoteza i cele badawcze, Opis wkładu Autora, metodologia i omówienie publikacji, Podsumowanie i wnioski, Streszczenie, Abstrakt i Literatura. Układ tekstu jest starannie przygotowany i nie budzi wątpliwości.

Podstawą rozprawy doktorskiej stanowi cykl 5 publikacji, w których Doktorant jest jednym ze współautorów. Na cykl składają się następujące pozycje:

- Publikacja oznaczona jako D1, opublikowana w *Polymers* (MDPI) 2021. Doktorant jest trzecim współautorem. Wg informacji podanej w *Author Contribution* rolą Doktoranta było wykonanie badań. Czasopismo nie jest kwalifikowane w dyscyplinie nauki medyczne, w której doktorant ubiega się o nadanie stopnia. Publikacja ma 12 cytowań (Scopus)
- Publikacja D2, opublikowana w *Cancers* (MDPI) 2022. Doktorant jest pierwszym współautorem, a Jego rolą, pomimo pierwszego miejsca wśród autorów, było wg *Author Contribution* jedynie wykonanie badań. Publikacja ma 12 cytowań (Scopus)
- Publikacja D3, opublikowana w *Molecules* (MDPI) 2023. Doktorant jest drugim współautorem. Był odpowiedzialny za konceptualizację, metodologię (część chemiczna) oraz wykonanie badań. Publikacja ma 7 cytowań (Scopus).



Zakład Chemii Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin
tel. 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl

**Department of Medical
Chemistry**
Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Poland
Phone +48 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl



- Publikacja D4, opublikowana w *Biomaterial Advances* (Elsevier) 2022. Doktorant jest drugim współautorem odpowiedzialnym za wykonanie badań. Publikacja ma 34 cytowania (Scopus)
- Publikacja D5, opublikowana w *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (Elsevier). Doktorant jest pierwszym współautorem. Był odpowiedzialny za wykonanie badań, krytyczne czytanie tekstu i redagowanie po pierwszej wersji. Publikacja ma 15 cytowania (Scopus).

Analizując pod kątem formalnym przedstawione powyżej publikacje należy zauważyć, że rola Doktoranta sprowadzała się w nich głównie do aspektu technicznego — wykonania badań. Jedynie w jednej publikacji Doktorant był współodpowiedzialny za opracowanie planu badań (w *Author Contribution: conceptualization*) oraz za opracowanie „chemicznej” części ich metodologii. W ostatniej z cyklu publikacji był współodpowiedzialny za krytyczne czytanie tekstu i uwagi po pierwszej wersji. W żadnej pracy nie brał udziału w pisaniu manuskryptu (tzw. „*writing – original draft*”), ani nie był autorem korespondującym. Wkład Doktoranta, przeważnie ograniczony do roli technicznej, pozostawia niewielki niedosyt, gdyż od Kandydata na stopień doktora wymagany jest większy wkład twórczy w wykonywany projekt; uczestnictwo w tworzeniu koncepcji badawczej, interpretację wyników, wyciąganie wniosków i pisanie manuskryptów. Oceniając sumarycznie zarówno wkład w powstawanie publikacji jak też pierwszą, monograficzną część dysertacji stwierdzam, iż spełnia ona wymogi formalne.

„Ocena wraz z uzasadnieniem czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego”

Doktorant w dysertacji zaproponował dwie hipotezy badawcze, których prawdziwość ocenił w przeprowadzonych badaniach. Pierwsza hipoteza mówi, iż dendrymery PAMAM G2-G4 zmodyfikowane przez addycję polioli i/lub biotyny mogą stanowić skuteczne nośniki dla leków p/nowotworowych oraz kombinacji wielolekowych, skutkując wzrostem ich aktywności biologicznej otrzymanych przy ich użyciu koniugatów. Druga hipoteza mówi, koniugaty z dwoma lub więcej lekami o różnych mechanizmach działania mogą wykazywać efekt p/nowotworowy poprzez addycję lub synergii. Hipotezy są klarownie postawione i zostały rozwinięte w kilka celów szczegółowych, których osiągnięcia podjął się Doktorant w kolejnych publikacjach stanowiących podstawę rozprawy. Jak czytamy w rozdziale 3 (Hipoteza i cele badawcze) w publikacji D1 celem było ocena wpływu addycji R- lub S-glicydolu do dendrymerów PAMAM G2 i G3 na wychwytywanie tak zmodyfikowanych koniugatów przez komórki nowotworowe SCC-15 vs komórki nienowotworowe HaCaT. W publikacji D2, D3 i D4 celem była synteza koniugatów PAMAM G3 oraz G4 zawierających kombinacje różnych leków p/nowotworowych, a następnie ocena ich biologicznej aktywności (synergia i/lub addycja) oraz wzrost selektywności względem komórek: glejaka, raka piersi, raka płuc i raka kolczystokomórkowego. Celem publikacji D5 było opracowanie innowacyjnej ścieżki syntezy koniugatów fosforanów leków z dendrymerami PAMAM G3 poprzez wiązanie fosfoamidowe oraz ocena aktywności uzyskanych koniugatów względem linii komórkowych ludzkich białaczek.

Wszystkie artykuły stanowiące podstawę dysertacji zostały opublikowane w „impaktowanych”, międzynarodowych czasopismach naukowych, przez co każdy z nich obligatoryjnie przechodził proces peer-review, w trakcie którego recenzenci zwracali uwagę na ewentualne nieścisłości oraz potencjalnie błędy pojawiające się w manuskryptach. Dlatego też ponowna, szczegółowa ocena załączonych publikacji wydaje się na obecnym etapie nieuzasadniona. Potwierdzeniem ich wysokiej jakości merytorycznej jest uzyskanie w sumie 80 cytowań za cały cykl (wg bazy Scopus, styczeń 2026).



Zakład Chemii Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin
tel. 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl

**Department of Medical
Chemistry**
Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Poland
Phone +48 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl



Doktorant w przeprowadzonych badaniach był zaangażowany w wykonanie analitycznych procedur chemicznych. Prowadził funkcjonalizację powierzchniowych grup aminowych PAMAM, koniugację dendrymerów z lekami p/nowotworowymi. syntezę, izolację i charakterystykę otrzymanych związków. Doktorant opracował koncepcję kowalencyjnego przyłączenia leków p/nowotworowych stosowanych w leczeniu raka piersi do glukoheptoamidowanego PAMAM. Do badań wykorzystywał różne techniki laboratoryjne, w tym spektroskopię NMR. Wykonane procedury świadczą o dużym doświadczeniu analitycznym Doktoranta, zdobytym w dziedzinie pośrednio związanej z kierunkiem ukończonych studiów. W mojej ocenie jest to ważna cecha, gdyż dobra znajomość pracy laboratoryjnej przynosi wymierne korzyści nie tylko poprzez uzyskiwanie rzetelnych wyników badań, ale także podnosi świadomość ogólnych zasad dotyczących metod analitycznych stosowanych w medycynie. Pozwala to na bardziej świadomą interpretację wyników badań zleczanych pacjentom w trakcie pracy klinicznej.

Badania doprowadziły do uzyskania ciekawych wyników na podstawie których wyciągnięto następujące wnioski; koniugacja leków z PAMAM pozwala osiągnąć kontrolę nad składem otrzymanego związku oraz zapewnia bardziej stabilny profil uwalniania leku; koniugaty z wiązaniem fosforoamidowym umożliwiają minimalizację skutków ubocznych przy jednoczesnym zachowaniu efektywności otrzymanego w ten sposób związku; wysoka rozpuszczalność koniugatów w wodzie umożliwia poprawę biodostępności leków hydrofobowych poprzez zastosowanie sfunkcjonalizowanych PAMAM; najbardziej optymalną strategią wydaje się synteza koniugatów w jednolekowych. Podsumowując wnioski Doktorant stwierdza, iż „strategia kowalencyjnego przyłączenia leków do nanoosników opartych o PAMAM może przyczynić się do opracowania nowych metod terapeutycznych charakteryzujących się wysoką skutecznością oraz ograniczonym zakresem działań niepożądanych”. Pozostaje mieć nadzieję, że przeprowadzone badania jak najszybciej będą miały przełożenie na zastosowanie kliniczne i przyczynią się do leczenia pacjentów.

Rozprawa doktorska bez wątpienia stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

”Ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa a prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata ubiegającego się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki medyczne”

Rozprawa doktorska w części monograficznej, której autorem jest jedynie Doktorant, zawiera informacje dotyczące zarówno farmakoterapii wybranych nowotworów, oporności na leki przeciwnowotworowe oraz systemy transportu leków. Zagadnienia są dobrze scharakteryzowane, wskazując na posiadanie przez Doktoranta wiedzy zarówno odnośnie stosowanych substancji leczniczych, jak również jednostek chorobowych, względem których zastosowane leczenie mogłoby mieć w przyszłości potencjalnie zastosowane. Doktorant też wykorzystał w tej części niektóre dane nieobecne w załączonych publikacjach (rycina 5 i 6) stwierdzając, iż są one elementem nowego, przygotowywanego manuskryptu.

W podsumowaniu stwierdzam, iż rozprawa prezentuje szeroką wiedzę teoretyczną nie tylko z zakresu medycyny, ale też z zakresu chemii analitycznej oraz medycznej.

”Ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez osobę ubiegającą się o nadanie stopnia doktora”

Jest oczywistym, że stopień doktora uzyskiwany pod czujnym okiem promotora, stanowi pewien etap do usamodzielnienia naukowego, którego dopełnieniem jest uzyskanie stopnia doktora habilitowanego, określanego mianem „samodzielnego pracownika nauki”. Choć tylko w jednej z publikacji Doktorant brał udział w tworzeniu projektu i opracowywaniu



Zakład Chemii Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin
tel. 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl

Department of Medical
Chemistry
Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Poland
Phone +48 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl



metodologii, co z reguły jest największym wysiłkiem intelektualnym przy prowadzeniu badań, to również aspekt techniczny obecny w przypadku Doktoranta we wszystkich publikacjach, wymaga ogromnej wiedzy i reagowania na nieprzewidywane okoliczności pojawiające się w trakcie eksperymentów. Treść ocenianej rozprawy doktorskiej opartej o opublikowane artykuły ze współudziałem Doktoranta nie budzą zastrzeżeń odnośnie umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej wymaganej na stopień doktora.

Pytania oraz uwagi do dysertacji

- Pewien chaos dotyczący treści wkraśl się do rozdziału 3. Na początku (3.1) Autor sformułował dwie hipotezy badawcze. Następnie (3.2) przedstawił cele badawcze, odnosząc je do publikacji podzielonych na trzy grupy (publikacja D1, publikacje D2–D4 oraz publikacja D5), po czym ujął je dodatkowo w czterech podpunktach. Na końcu rozdziału cele zostały ponownie przedstawione, w zmienionej formie, jako tekst ciągły. W rezultacie, choć główny temat badań został nakreślony i jest jasne, czego one dotyczą, cele badawcze zostały sformułowane w sposób rozproszony utrudniając formułowanie wniosków jednoznacznie się do nich odnoszących. Moim zdaniem przedstawiona nieścisłość wynika ze specyfiki prezentowania celów badań w poszczególnych artykułach, polegającej na braku obecności w nich jednoznacznych sformułowań typu „our goal was...”, „the aim of our study was...” etc. W przypadku literalnie wydzielonych celów badawczych wystarczyłoby je jedynie skopiować do rozdziału 3. Określenie konkretnych, kilku celów jest ważne w tego typu pracach, gdyż wnioski wyciągnięte na podstawie wyników, w liczbie im odpowiadającej, powinny bezpośrednio się do nich odnosić i na nie odpowiadać. Brak zastosowania tego schematu skutkuje tym, że w dysertacji pojawiają się wnioski, które nie odpowiadają żadnym z postawionych w rozdziale 3 celów, np. „Przylączenie kombinacji leków przeciwnowotworowych do PAMAM może okazać się skuteczną strategią dla opracowania nowych leków przeciwpasożytniczych”. Inny wniosek: „Przylączenie leków o aktywności przeciwnowotworowej do PAMAM może przyczynić się do poszerzenia grupy terapeutyków o właściwości pożądanym w kontekście terapii nowotworów złośliwych takich jak senolityki” jest niejasny treściowo i również nie wynika z konkretnego celu badań.
- Nie jest zrozumiałe, dlaczego Doktorant umieszczał odnośniki do piśmiennictwa (dotyczy pierwszej, monograficznej części dysertacji) zbiorczo w nagłówkach akapitów lub na ich końcach. Akapity są czasami stosunkowo długie, np. akapit rozpoczynający się od: „Większość zgonów (...)” do: „(...) prowadzenia terapii.” (strona od 5 do 7) zawierający wiele ciekawych wątków, kończy się zbiorczym odesłaniem czytelnika do 16 pozycji piśmiennictwa [22-37]. W takim przypadku pojawia się trudność z dopasowaniem konkretnej pozycji literaturowej do określonego fragmentu tekstu. Dlatego też odpowiednie odnośniki powinno umieszczać się bezpośrednio po zakończonym wątku. Problem ten nie występuje w załączonych publikacjach będących podstawą rozprawy, a zastosowanie niekonwencjonalnego sposobu odsyłania do piśmiennictwa może częściowo wynikać z faktu, iż wg. zawartej w publikacjach deklaracji w żadnej z nich Autor nie był bezpośrednio zaangażowany w pisanie tekstu.
- Większą staranność zaleca się włożyć w sposób prezentacji skrótów. Niektóre z nich są poprawnie wyjaśniane podczas pierwszego pojawienia się w tekście poprzez podanie obu nazw, polskiej i angielskiej oraz są one również obecne w spisie skrótów umieszczonym na początku dysertacji. Przykładem jest skrót „TNF” (strona 4). Inne, jak „EGFR” (strona 4) są opatrzone w tekście jedynie pełną nazwą angielską i nie znajdują się w spisie skrótów. Jeszcze inne, jak np. „HPV”, „HCV” (strona 3) nie są wcale wyjaśniane ani w tekście, ani w spisie skrótów. Czasami też (przykładem jest „HER-2”) skrót jest wyjaśniany dopiero



Zakład Chemii Medycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin
tel. 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl

**Department of Medical
Chemistry**
Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Poland
Phone +48 81 448 61 90, e-mail:
chemia.medyczna@umlub.edu.pl



przy kolejnym pojawieniu się (pierwszy raz: strona 4, wyjaśnienie skrótu: strona 12). Nazwy angielskie raz są pisane kursywą, innym razem nie. Tego typu błędy edytorskie niepotrzebnie skupiają na sobie uwagę czytelnika, która powinna być ukierunkowana na merytoryczną zawartość treści.

Podsumowanie

Zaplanowane i konsekwentnie wykonane badania osiągnęły zamierzone cele. Zarówno treść rozprawy, jak i dorobek naukowy Autora świadczą o dojrzałości naukowej lek. Konrada Michała Wróbla i uzasadniają ubieganie się o stopień doktora. Dysertacja pt. „Zmodyfikowane dendrymery PAMAM jako skuteczne systemy transportu leków przeciwnowotworowych” oparta na cyklu publikacji stanowi ciekawy i istotny wkład do badań nad dendrymerami poliamidoaminowymi różnych generacji jako systemu transportu leków przeciwnowotworowych w badaniach *in vitro*. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 roku poz. 1571). Dlatego też wnioskuję do Rady Dyscypliny CM Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie lek. Konrada Michała Wróbla do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, 29 stycznia 2026

Kierownik
Zakładu Chemii Medycznej
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Prof. dr hab. n. med. Jacek Kurzepa