

Warszawa, 10.02.2023 r.

Dr hab. n. farm. Sylwia Flis, prof. Uczelni

Centrum Medycyny Translacyjnej SGGW

w Warszawie

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Eweliny Wałęki-Bargieł

**pt. „Wykorzystanie mikro-/nanożeli czułych na warunki
środowiskowe jako nośniki leków”**

Choroby nowotworowe nie są chorobami współczesności, towarzyszą ludzkości od tysięcy lat, natomiast ze względu na ich powszechność i stałą tendencję wzrostową ich występowania lokują się na czele peletonu tzw. chorób cywilizacyjnych. W tym kontekście, jak donoszą dane Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), pierwsze miejsce zajmuje rak piersi, który w statystykach wyprzedził nawet raka płuc, do tej pory najczęściej diagnozowanego nowotworu złośliwego. Niepokojący jest jednak fakt, że jest to nowotwór dotyczący głównie kobiety. Co więcej, drugim równie problematycznym dla kobiet nowotworem jest rak jajnika zajmujący pod względem częstości występowania 8 miejsce na świecie. Patrząc na te mało optymistyczne statystyki zastanawiające jest, że w dobie ogromnego rozwoju technologicznego umożliwiającego tworzenie lepszych i doskonalszych systemów diagnostycznych czy terapeutycznych, ludzkość wciąż jest o krok za „rakiem”. W obecnych czasach nowotwory stały się wrogiem nie tylko narodowym (istotnym dla poszczególnych państw), ale ogólnosiwiatowym, a ludzkie ciało polem bitwy. Nowotwór jest chorobą

Szkoła Główna Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie

Centrum Medycyny
Translacyjnej

ul. Nowoursynowska 100
02-797 Warszawa
+48 22 593 38 40
sekretariat_cmt@sggw.edu.pl
www.sggw.edu.pl

klonalną, ewoluującą dzięki ciągłym mutacjom i selekcji komórek opornych na stosowane metody leczenia. Dlatego poszukiwanie nowych strategii terapeutycznych jest niezwykle istotnym elementem badań podstawowych i rozwojowych. Patrząc na zapiski Imhotepa, znanego medyka starożytnego Egiptu, który przy rozpoznaniu guzów piersi w metodach ich leczenia pisał „brak”, możemy poczuć się komfortowo, gdyż postęp w leczeniu nowotworów jest ogromny i wiele z nich udaje się wyleczyć pod warunkiem, że są zdiagnozowane na wczesnym etapie rozwoju. Niestety problemem terapeutycznym pozostają zmiany w zaawansowanym stadium choroby. Szczególnie złe rokowania występują w przypadku pacjentów z nowotworami złośliwymi w fazie przerzutów, spowodowanej kolonizacją innych miejsc i/lub narządów (tzw. wtórne ogniska). Co więcej w ciągu ostatnich 30 lat odnotowano dwukrotny wzrost zachorowań na nowotwory, które stanowią obecnie drugą przyczynę zgonów. Z tego względu zwiększanie skuteczności istniejących i poszukiwanie nowych metod terapeutycznych opartych o nowe nośniki farmaceutyczne stanowi wręcz nagłą potrzebę nie tylko w leczeniu chorób nowotworowych. Tym samym podjęty przez doktorantkę *temat dotyczący opracowania nowych, selektywnych nośników leków* ma nie tylko charakter badań podstawowych mających na celu poszerzenie naszej wiedzy, ale przede wszystkim uzyskane wyniki mogą w przyszłości mieć zastosowanie praktyczne.

Doktorantka do syntezy nowych nośników leków, w postaci mikrokapsulek oraz mikro-/nanocząstek żelowych, wykorzystwała dwa związki chemiczne: poli(N-izopropylakryloamid) (PNIPA) oraz poli(N-winylopirolidon) (PVP) należące do grupy tzw. polimerów inteligentnych, wrażliwych na bodźce środowiskowe. Dzięki tym właściwościom leki zamknięte w tego typu nośnikach mogą być dostarczane do miejsca działania w sposób celowany, a ich zastosowanie w tzw. systemach kontrolowanego dostarczania leku (*ang. Drug Delivery System; DDS*) może, nawet przy niższych ogólnoustrojowych dawkach leku niż tradycyjnie stosowane, zapewnić osiągnięcie terapeutycznego stężenia leku w miejscu podania czy tkance docelowej (czasowe uwolnienie substancji aktywnej) oraz zmniejszyć ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. Oba użyte polimery cechuje stosunkowo wysoka biokompatybilność, co oznacza, że są dobrze tolerowane przez organizm ludzki, to nie są one pozbawione wad: PNIPA nie posiada dostępnych do modyfikacji grup funkcyjnych, może ulegać agregacji, na zasadzie oddziaływań hydrofobowych wiąże inne związki biologiczne (np. aminokwasy, białka) a w postaci homopolimeru nie ulega



biodegradacji; podczas gdy PVP charakteryzuje wysokie ryzyko wywoływania reakcji alergicznych, podatność na kontaminacje mikrobiologiczne związane z silnymi właściwościami hydrofilowymi i higroskopijnymi związku, obserwuje się również problemy z jego degradacją szczególnie w przypadku PVP o dużej masie cząsteczkowej. Niemniej jednak Doktorantka podjęła próbę syntezy nowych nośników leków, na bazie w/w związków, charakterystykę ich właściwości fizykochemicznych oraz aktywności biologicznej. Synteza nanocząstek żelowych została przeprowadzona w oparciu o metodę polimeryzacji strąceniowej. W przypadku PNIPA, aby zwiększyć zdolność ładowania leku w nanocząstce, wprowadzono grupy karboksylowe do sieci polimerowej nanocząstek poprzez kopolimeryzację PNIPA z solą sodową kwasu akrylowego (AANa) stosując jako czynnik sieciujący dwusodową sól N,N'-bis(akryloilo)cystyny (BISS), która charakteryzuje się dodatkowo obecnością mostków dwusiarczkowych -S-S-. Z kolei w syntezie mikrożeli opartych o PVP zastosowano kwas akrylowy (AA) a jako czynnik sieciujący N,N'-bis(akryloilo)cystaminę (BAC), który podobnie jak BISS zawiera mostki dwusiarczkowe. Wykorzystując oddziaływania elektrostatyczne pomiędzy zjonizowanymi grupami karboksylowymi w sieciach polimerowych cząstek i kapsulek oraz uprotonowaną grupą aminową leków, otrzymane nośniki załadowano cytostatykami takimi jak doksorubicyna (DOX) i/lub epirubicyna (EPI), powszechnie stosowanymi w klinice onkologicznej. Zastosowanie w obu przypadkach związków sieciujących (odpowiednio BISS i BAC) zawierających wiązania dwusiarczkowe jest interesującym rozwiązaniem, umożliwiającym zmniejszenie gęstości sieciowania w warunkach redukujących. Ta nowa funkcjonalność umożliwia zwiększenie uwalniania leku, na przykład pod wpływem wewnątrzkomórkowego glutationu (GSH), w przypadku endocytozy nowych nano-/mikrocząstek.

Poszukiwanie nowych nośników leków, choć jest nie nowym, to wciąż potrzebnym i nowatorskim obszarem badań, w którym pokłada się duże nadzieje. Ma to związek przede wszystkim z poprawą wydajności obecnie stosowanych metod terapeutycznych a także umożliwienia terapii przy zastosowaniu nowych związków, które ze względu na niską biodostępność lub wysoką toksyczność nie mogły być brane pod uwagę jako potencjalne produkty lecznicze. Z tego względu należy wysoko ocenić fakt podjęcia przez Doktorantkę tego obszaru badań.

Dodatkowym celem pracy było zaprojektowanie i stworzenie funkcjonalnej platformy *Lab-on-a-chip* (tzw. mikroukład) pozwalającej na rejestrowanie uwalniania leków dla kilku

niezależnych powtórzeń lub większej liczby próbek w tym samym czasie. Warto zaznaczyć, że choć idea mikroukładów *Lab-on-a-chip* ma już prawie 30 lat i jest dynamicznie rozwijana, to jej wykorzystanie w badaniach jest wciąż elitarne ze względu na brak gotowych układów i wynikającą z tego konieczność ich wytwarzania na potrzeby konkretnych eksperymentów. Zastosowanie mikroukładu w pracy Doktorantki nie jest zaskoczeniem zważywszy na fakt, że jednym z promotorów pracy jest Prof. dr hab. inż. Artur Dybko prekursor wykorzystania w Polsce mikroukładów w badaniach, a sama praca została wykonana w Katedrze Biotechnologii Medycznej, Wydziału Chemii Politechniki Warszawskiej.

Podsumowując tą część recenzji uważam, że podjęta przez Doktorantkę tematyka wpisuje się w aktualny nurt badań dotyczących poszukiwania nowych, doskonalszych nośników leków, a tym samym lepszych możliwości terapeutycznych nie tylko w chorobach onkologicznych. Z tego względu celowość podjętego tematu badań jest moim zdaniem w pełni uzasadniona i ważna nie tylko z poznawczego, ale także z praktycznego punktu widzenia.

Jak wspomniano wcześniej, rozprawa doktorska mgr Eweliny Wałęki-Bargieł została wykonana w Katedrze Biotechnologii Medycznej Wydziału Chemii Politechniki Warszawskiej pod kierunkiem Prof. dr hab. Artura Dybko oraz dr hab. Marcina Karbarza profesora Uniwersytetu Warszawskiego (Wydział Chemii).

Podstawą rozprawy są 2 prace eksperymentalne w czasopismach międzynarodowych o łącznym współczynniku oddziaływania $IF \approx 12,165$, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Ogólny dorobek publikacyjny Pani mgr Eweliny Wałęki-Bargieł wzbogacają 3 prace oryginalne opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, w których jest współautorką a ich łączny współczynnik oddziaływania wynosi $IF \approx 18,829$.

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie klasycznej monografii o standardowym układzie rozdziałów, zakończonej spisem 243 pozycji cytowanej literatury. Ze względu na to, że wspólną cechą przeprowadzonych prac eksperymentalnych było zastosowanie podobnego podejścia metodologicznego wobec badanych formułacji/nośników leków, uzyskane wyniki są na bieżąco dyskutowane, a całość cyklu doświadczeń i otrzymanych w ich toku wyników jest zebrana i krótko omówiona na tle literatury naukowej w rozdziale „Podsumowanie pracy i

wnioski”, co jest wygodnym i praktykowanym rozwiązaniem ułatwiającym odbiór pracy. Układ pracy jest logiczny i przejrzysty; praca jest wzbogacona o kolorowe zdjęcia, schematy oraz wykresy.

Rozdział „Część literaturowa” poprzedzona jest jasnym i precyzyjnie przedstawionym celem pracy, który uzasadnia jego podjęcie.

Wstęp teoretyczny ma charakter przeglądu literaturowego liczącego 47 stron i dobrze wprowadza w tematykę pracy omawiając założenia systemów kontrolowanego uwalniania leków, zastosowania w nich nowych nano-/mikrocząstek oraz metod ich otrzymywania w oparciu o PNIPA i PVP. Przybliżono również metody wytwarzania mikroukładów oraz opisano mechanizm działania wykorzystanych w pracy cytostatyków takich jak doksorubicyna i epirubicyna. Rozumiem, że praca w dużej mierze opiera się o wiedzę i doświadczenie chemiczne Doktorantki, niemniej jednak poruszana tematyka, w pewnym sensie ma charakter multidyscyplinarny, dlatego szczególnie we wstępie i celu pracy, powinna być opisana ze szczególną dokładnością. Informacja, że *„Jednym z czynników, który może prowadzić do raka jajnika jest mutacja genów BRCA1 i BRCA2 (...)”* (str. 15) jest jak najbardziej prawdziwa. Poruszając jednak wątek uwarunkowań genetycznych/dziedzicznych, warto by było wspomnieć, że mutacje w tych genach znacząco zwiększają ryzyko zachorowania nie tylko na raka jajnika, ale również, a może przede wszystkim, raka piersi. Na stronie 17 pojawiło się zdanie *„Wyznaczyłam, z wykorzystaniem UV-Vis, profile uwalnia w środowiskach imitujących prawidłowe i nowotworowe komórki”* – środowisko nie imituje „typu/rodzaju” komórek, w określonym środowisku komórki mogą funkcjonować. W kontekście dopuszczenia do obrotu leków o silnym działaniu cytotoksycznym padło stwierdzenie że *„Stało się tak, ponieważ ich stosowanie było korzystniejsze dla organizmu, niż potencjalne ryzyko jakie stwarzały (...)”* (str. 20) – duży skrót myślowy, stosowanie tych leków nie było/nie jest korzystniejsze dla organizmu (niejednokrotnie wręcz przeciwnie), ale było/jest jedyną, dostępną opcją terapeutyczną ograniczającą dalszą progresję choroby, czyli rozwój/ekspansję komórek nowotworowych. Co więcej Nile Red (czerwień Nilu) nie jest lekiem modelowym lecz barwnikiem lipofilowym o właściwościach fluorescencyjnych (str. 36); PVP nie ma właściwości „antytoksycznych” lecz w połączeniu z innymi związkami ogranicza ich toksyczność (str. 38); w tabelach 2 i 3 (str. 39 i 49) w kolumnie „Efekt terapeutyczny” odnosi się wrażenie, że jest to efekt działania PVP, a nie substancji czynnych konkretnych produktów leczniczych.

W części „Modelowe leki przeciwnowotworowe” nazwy wymienianych cytostatyków są błędnie zapisane i tak pojawia się „cyklofosamid” zamiast cyklofosfamid, „chlorambucyl” zamiast chlorambucyl, „ifosfamide” zamiast ifosfamid, „5-fluouracyl” zamiast 5-fluorouracyl, „cytrabina” zamiast cytarabina czy alkaloidy „barwnika różyczkowego” zamiast barwinka różowego (łac. *Vinca rosea* L.) a właściwie katarantusa różowego (łac. *Catharanthus roseus*, wg. nowej nomenklatury; *notabene* do tej grupy zalicza się winkrystynę, winblastynę, windezynę, winorelbinę).

W rozdziale „Część eksperymentalna” opisane są wykorzystane materiały i zastosowane metody badawcze. W opisie „Protokoły dotyczące hodowli komórkowej” (rozdział 7) warto by było podać skład zastosowanego roztworu soli fizjologicznej (PBS), a przynajmniej zaznaczyć, czy zawierał (lub nie) jony Ca^{2+} i Mg^{2+} , których obecność wpływa na aktywność trypsyny. Poza tym bez względu na to czy komórki określonej linii są mniej lub bardziej wrażliwe na działanie różnego rodzaju substancji (przede wszystkim trypsyny) powinny być podczas rutynowego pasażu „przepłukiwane”, odwirowywane i liczone, aby w odpowiedniej gęstości wysiewać komórki do naczyń hodowlanych celem utrzymania hodowli w eksponentalnej fazie wzrostu. Brak jest również informacji czy podczas oceny gęstości zawiesiny komórkowej oceniano żywotność komórek stosując na przykład roztwór błękitu trypanu. Podawanie objętości pożywki dodawanej do butelki hodowlanej bez uwzględnienia jej pojemności/powierzchni wzrostu jest bezużyteczną informacją. Zakładam, że były to butelki o pow. 25cm^2 , na taką powierzchnię 5ml pożywki to moim zdaniem trochę za mało. W opisie testu cytotoksyczności MTT (podrozdziały 8.1.9; 10.1.10) zabrakło mi podstawowych informacji dotyczących tego na czym polega sam test, czyli jakie właściwości komórek są wykorzystywane, przy jakiej długości fali dokonuje się pomiaru absorbancji i samego sposobu/zasady obliczenia przeżywalności komórek na podstawie uzyskanych wyników.

W przypadku stosowania mikroskopii fluorescencyjnej zabrakło mi zdjęć uzyskanych w świetle przechodzącym i najlepiej w kontraście fazowym. Stanowią one dobrą kontrolę i ułatwiają interpretację wyników poprzez dostarczenie dodatkowych informacji o liczebności i morfologii komórek, braku ewentualnych kontaminacji, a czasami poprzez porównanie, również informacji o potencjalnej lokalizacji wewnątrzkomórkowej źródła sygnału fluorescencji. Obecność takiej kontroli jest szczególnie istotna przy słabym/mało licznym lub „zerowym” sygnale fluorescencji lub słabej jakości zdjęć. Przykładem może tu być rys. 23, chociaż dotyczy to również rys. 45 i 46, na

którym powinno się obserwować czerwoną fluorescencję emitowaną przez DOX w jądrach komórek MCF-7 i A2780, tymczasem skonfundowany odbiorca zastanawia się co powinien zobaczyć, gdyż opisywane wnioski Doktorantki nie idą w parze z zamieszczonymi zdjęciami (dwa zdjęcia zupełnie czarne a dwa z ledwo widocznym kolorem czerwonym). Nie bardzo również rozumiem dlaczego zdjęcia z mikroskopu fluorescencyjnego komórek poszczególnych linii były robione przy różnych powiększeniach, przez co na niektórych zdjęciach widać tylko pojedyncze komórki, a na innych „całą populację”. Takie obrazy ciężko porównywać i interpretować. Z kolei na rys. 45, 46, 75 i 76 o ile zostały zamieszczone zdjęcia kolokalizacji sygnałów fluorescencji jądro/DOX lub EPI dla komórek wszystkich badanych linii komórkowych, to na rys 23 dla komórek MCF-7 i A2780 zamieszczono zdjęcia z każdego kanału oddzielnie, a dla komórek MCF-10A tylko zdjęcia z nałożenia, pomijam fakt, że nie wykonano zdjęć dla komórek prawidłowych linii HOF.

Dość dużą wątpliwość wzbudzają u mnie wyniki uzyskane przy zastosowaniu metody cytometrii przepływowej, którą lubię i wysoko cenię. Wbrew pozorom jest to dość wymagająca technika, która od eksperymentatora wymaga dobrego przygotowania merytorycznego. Przed przystąpieniem do analizy określonych parametrów komórkowych przy użyciu cytometru przepływowego kluczowym elementem jest dobre zapoznanie się z komórkami, z którymi się pracuje (np. jak się zmieniają pod wpływem badanych związków czy nośników, gdyż może mieć to bezpośredni wpływ na zmiany analizowanych parametrów takich jak wielkość (FSC) i ziarnistość (SSC)) oraz zastosowanie odpowiednich kontroli.

Właśnie *forward scatter* (FSC) i *side scatter* (SSC) są podstawowymi, wyjściowymi parametrami w cytometrii przepływowej, które pozwalają na zdefiniowanie i „zabramkowanie” właściwej populacji komórek, odcinając tzw. „śmieci” (*ang. debris*) czy martwe komórki, a tym samym pozbywając się od tych elementów sygnałów autofluorescencji. Przedstawiona na rys. 49, 65 i 79 analiza skuteczności wnikania mikrożeli i mikrokapsułek zawierających lub nie DOX lub EPI nie do końca została, w moim przekonaniu, przeprowadzona w sposób prawidłowy. Po pierwsze brakuje mi wykresów z odpowiednich kontroli (cyto- i histogramów dla komórek bez nośnika oraz z nośnikiem ale bez DOX/EPI) i bramkowania właściwych populacji komórek. Po drugie, przy wielu analizach cytometrycznych istotnym elementem jest odcięcie sygnałów z tzw. dubletów, gdyż ma to znaczący wpływ na analizę i interpretację wyników. W tym celu, aby zaznaczyć odpowiednie populacje komórek (*singlet cells* i *doublet cells*), tworzy się wykresy zależności (w postaci

cytogramów) najczęściej dla parametrów FSC-A vs FSC-H lub SSC-A vs SSC-H. Taką zależność przedstawiają środkowe wykresy dla komórek linii A2780 (FSC-A vs FSC-H) na rys. 49, 65 i 79 z tym że bramka nie jest ustawiona na populacji *singlet cells* a *doublet cells*. Dla pozostałych linii komórkowych kolumny pierwsza i środkowa przedstawiają wykresy dla tej samej pary parametrów tzn. FSC-A vs SSC-A z tym, że w kolumnie drugiej wykresy przedstawiają po prostu populację komórek z bramki ustawionej na podstawowym/wyjściowym wykresie z kolumny pierwszej i bynajmniej na tej podstawie nie można odróżnić populacji *singlet cells* od *doublet cells*. Co więcej, porównanie próbek kontrolnych i badanych dobrze jest dodatkowo przedstawić na wykresach/histogramach typu *overlay*. Zabrakło mi również informacji dotyczących przygotowania samego eksperymentu i próbek do analiz przy użyciu cytometru przepływowego, a także liczby zliczanych komórek z próbki poddawanej analizie/akwizycji.

Za najistotniejsze wyniki prezentowane w niniejszej rozprawie doktorskiej uważam:

- (I) Wykazanie, że PNIPA, ale przede wszystkim PVP są związkami, które można z powodzeniem wykorzystać do tworzenia nowych nośników leków. Wytworzone przez Doktorantkę nano- i mikrozele oraz mikrokapsułki miały odpowiednie rozmiary zapewniające wydajne wnikanie do wnętrza komórek, a co najważniejsze charakteryzowały się dobrą stabilnością w warunkach zmiennego pH oraz stężenia chlorku sodu.
- (II) Wykazanie, że stworzone stałe postacie farmaceutyczne bazujące na PNIPA i PVP sprawdzają się jako nośniki dla cytostatyków, a ich zdolność do częściowej degradacji (spadku stopnia usieciowania) w środowisku o wysokim stężeniu GSH, charakterystycznym zwłaszcza dla komórek nowotworowych, powoduje że dostarczane przez nie leki działają bardziej selektywnie wobec komórek nowotworowych.
- (III) Zaprojektowanie i stworzenie przez Doktorantkę mikrosystemu przepływowego do badania profili uwalniania leków z nano-/mikrocząstek w czasie rzeczywistym.

W rozdziale „Podsumowanie i Wnioski” Doktorantka w skrócie opisuje główne zagadnienia poruszane w pracy oraz uzyskane wyniki. Szkoda, że zabrakło tutaj kilku (3-5) ogólnych wniosków wyciągniętych na podstawie zebranych wyników. Następnym rozdziałem jest „Wykaz skrótów”

zastosowanych w pracy. Lista jest dość długa i niestety niekompletna, co więcej niektóre skróty zostały użyte bez wprowadzenia (brak opisu / rozwinięcia skrótu) np. BRCA1/2 (*breast cancer type 1/2*, str. 15), MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, str.46); HDAC (*histone deacetylase* str. 46) itp. Tak na marginesie warto jest się również zaznajomić z zasadami zapisu genów (kursywa, wielka litera w przypadku genów ludzkich) i białek, gdyż w zależności od przynależności gatunkowej zasady są inne.

Przedstawiona do oceny praca liczy 201 stron. Niestety taka „objętość” sprzyja pojawianiu się licznych drobnych błędów: przeliterowań, skrótów myślowych oraz niezręczności stylistycznych wynikających zapewne z przeredagowań tekstu. Doktorantka nie ustrzegła się stosowania żargonu laboratoryjnego, błędów logicznych czy dosłownych tłumaczeń z języka angielskiego. I tak mamy np. (...) *takie jak między innymi* (...) (str. 22), „Autor stwierdził, że znaczna ilość nanocząstek obciążonych ekstraktem z goździków znajdowała się w komórkach w stanie sub-G1”, zastosowany termin „stan sub-G1” jest nieprawidłowy, skoro Doktorantka wykorzystuje metody cytometrii przepływowej powinna być lepiej zorientowana w stosowaniu odpowiedniej nomenklatury, w tym przypadku związanej z analizą zmian w progresji cyklu komórkowego; „(...) *inhibicja mitozy przez degenerację aparatu mitotycznego* (...)” zamiast zahamowanie mitozy poprzez zmiany w organizacji i funkcjonowaniu wrzeciona mitotycznego/podziałowego (str. 51), „(...) *retikulum sarkoplazmatyczne* (...)” zamiast retikulum endoplazmatyczne lub siateczka sarkoplazmatyczna (str. 54); „*Reprezentatywne wykresy cytometrii przepływowej* (...)” (str. 133, 156, 173) zamiast np. ocena skuteczności wnikania mikrożeli do komórek przy zastosowaniu metody cytometrii przepływowej (reprezentatywne wykresy); „*Obrazy konfokalne* (...)” (str. 94, 128, 129, 169 i 170) zamiast np. reprezentatywne obrazy/zdjęcia z mikroskopu konfokalnego. Poza tym w całej pracy nie znalazłam informacji o liczbie niezależnych eksperymentów przeprowadzonych dla każdego badania (przynajmniej części biologicznej); w spisie treści zabrakło punktów 10.1.10 oraz 10.1.11, przy czym w tytule pkt. 10.1.11 powinno się znaleźć PVP a nie PNIPA. Może się wydawać, że Recenzent jest zbyt drobiazgowy czy wręcz „czepialski”. Niestety wspomniane, przykładowe, błędy wpływają nie tylko na estetykę pracy, wynikającą w pewnym sensie z niezachowania należytej staranności edytorskiej oraz dbałości o język, ale prowadzą do utrwalania i powielania tychże błędów w kolejnych pracach. Trzeba mieć na uwadze, że publikowane prace, nie tylko doktorskie,

są materiałami ogólnie dostępnymi i stanowią wzorce, czy są materiałami pomocniczymi dla innych potencjalnych autorów prac naukowych.

Pragnę jednak podkreślić, że moje uwagi nie mają na celu umniejszenia wagi czy wartości otrzymanych wyników i samej pracy, lecz powinny być traktowane jako wskazówki, których zastosowanie może jeszcze podnieść ich wartość poznawczą w przypadku przyszłej publikacji. Pani mgr Ewelina Wałęka-Bargieł bez wątpienia wykazała się znajomością warsztatu badawczego oraz umiejętnością krytycznej analizy otrzymanych wyników. Biorąc pod uwagę nakład pracy włożony w uzyskanie tak licznych wyników, zastosowanych metod badawczych oraz dorobek publikacyjny Doktorantki uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska pt. *„Wykorzystanie mikro-/nanożeli czułych na warunki środowiskowe jako nośniki leków”* wykonana pod kierunkiem Prof. dr hab. inż. Artura Dybko oraz dr hab. Marcina Karbarza, prof. UW, spełnia wymagania określone w aktualnej ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym. Tym samym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie Pani mgr Eweliny Wałęki-Bargieł do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Sylwia Flis