



UNIWERSYTET
WARSZAWSKI

Wydział Chemii



Warszawa, 29.09.2022r.

dr hab. Dorota Matyszewska
Wydział Chemii,
Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych,
Uniwersytet Warszawski
ul. Żwirki i Wigury 101
02-089 Warszawa

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Alicji Sęk

„Rola związków powierzchniowo czynnych w modyfikacji wybranych właściwości modelowych błon biologicznych”

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Alicji Sęk została przygotowana w Katedrze Zjawisk Międzyfazowych Wydziału Chemii UMCS pod kierunkiem dr hab. Aleksandry Szcześ, prof. UMCS. Celem pracy było określenie wpływu niewielkich ilości surfaktantów na modelowe błony biologiczne: monowarstwy tworzone na granicy faz woda-powietrze metodą Langmuira oraz dwuwarstwy lipidowe przygotowywane w postaci liposomów. Zagadnienie to, z pozoru wydające się prostym, a może nawet dla niektórych mało ciekawym ze względu na mnogość istniejących już opracowań dotyczących oddziaływań związków powierzchniowo czynnych, okazuje się być jednak bardzo istotne. Niewielkie ilości surfaktantów mogą być nieświadomie wprowadzane do roztworów liposomalnych nośników leków, co w efekcie może prowadzić do zmian w strukturze warstwy lipidowej liposomów i tym samym wpływać na efektywność dostarczania substancji czynnych. Z drugiej strony, możliwość modyfikacji powierzchni liposomów poprzez świadomy dodatek niewielkiej ilości związków powierzchniowo czynnych może stanowić jedną z dogodnych metod optymalizacji właściwości takich liposomów. Z tego względu przeprowadzone przez Doktorantkę badania są ciekawe i jednocześnie mają istotny aspekt aplikacyjny.

Rozprawa doktorska mgr Alicji Sęk zawiera 140 stron i została w klasyczny sposób podzielona na część literaturową i doświadczalną. Na początku pracy znajduje się przydatny wykaz skrótów oraz rozdział stanowiący wprowadzenie do tematu i jednocześnie jasno definiujący cel

pracy. W części literaturowej Autorka omawia najważniejsze zagadnienia związane z tematem rozprawy doktorskiej. Kolejno opisane są naturalne błony komórkowe oraz sposoby tworzenia układów modelowych na granicy faz wykorzystując metodę Langmuira oraz inne metody służące do dalszej charakterystyki jak np. mikroskopia kąta Brewstera, pomiary potencjału powierzchniowego czy penetracji warstw lipidowych w czasie. Następnie zaprezentowane są zagadnienia związane z tworzeniem i charakterystyką liposomów. Ostatni rozdział części literaturowej stanowi opis związków powierzchniowo czynnych jako substancji modyfikujących właściwości membran biologicznych. Część literaturowa jest napisana na podstawie 281 odnośników literaturowych, które są dobrane we właściwy sposób. Stanowi ona interesujący, wyczerpujący i przede wszystkim merytorycznie poprawny wstęp do części doświadczalnej. Na uwagę zasługują również liczne rysunki i schematy umieszczone w tej części rozprawy, które są bardzo staranne, czytelne i spójne pod względem edycyjnym, co znacząco ułatwia i uatrakcyjnia czytanie tej części rozprawy. Część doświadczalną pracy rozpoczyna lista stosowanych odczynników oraz opis wykorzystywanych układów pomiarowych i metodyki pomiarów. W kolejnym rozdziale Doktorantka dyskutuje otrzymane wyniki dotyczące oddziaływania wybranych surfaktantów: niejonowego związku Triton X-100, anionowego SDS oraz kationowych surfaktantów o zwiększającej się długości łańcucha węglowego (DTAB, TTAB, CTAB) najpierw z monowarstwami lipidowymi utworzonymi na granicy faz woda-powietrze, a następnie z dwuwarstwami lipidowymi w postaci liposomów. Dla modelowych układów zbudowanych z DPPC zbadany został również wpływ metodyki przygotowywania liposomów oraz moment dodawania surfaktantów do układu na obserwowane zmiany. Natomiast w przypadku surfaktantów jonowych Doktorantka badała wpływ nasycenia łańcuchów węglowodorowych fosfatydylocholin tworzących modelowe układy na oddziaływania z surfaktantami. Rozprawa doktorska zakończona jest rozdziałem podsumowującym najważniejsze wnioski. Część doświadczalna pracy napisana jest w sposób klarowny i spójny. Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, że eksperymenty zostały zaplanowane w logiczny sposób tak, aby sprawdzić jak najwięcej aspektów mogących mieć wpływ na oddziaływania związków powierzchniowo czynnych z modelowymi błonami. Wykorzystując różne modele błon komórkowych oraz różnorodne

techniki eksperymentalne Doktorantce udało się określić, iż nawet niewielkie ilości powszechnie stosowanych surfaktantów mogą wbudowywać się w strukturę modelowych błon biologicznych i tym samym istotnie wpływać na ich właściwości. Jednocześnie oddziaływania tego typu zależą zarówno od właściwości samych związków powierzchniowo czynnych, w tym ich ładunku oraz długości części hydrofobowej, i ich stężenia, jak i od składu, struktury i właściwości samych błon biologicznych, w tym stopnia nasycenia łańcuchów węglowodorowych lipidów oraz obecności cholesterolu w warstwie. Końcowe wnioski są zaprezentowane w wyjątkowo przejrzysty sposób poparty podsumowującymi je rysunkami. Warto również podkreślić, że rozprawa doktorska mgr Alicji Sęk jest bardzo starannie przygotowana pod względem edycyjnym i językowym. Czytelny podział na podrozdziały, wcześniej wspomniane dobrze dobrane i starannie przygotowane rysunki i schematy umieszczone w części literaturowej i we wnioskach, a także praktycznie brak błędów językowych, literowych czy interpunkcyjnych znacząco ułatwia odbiór pracy.

Podsumowując całościowo dorobek naukowy mgr Alicji Sęk, warto również zauważyć, że Doktorantka jest współautorką w sumie siedmiu publikacji naukowych w renomowanych czasopiśmie naukowych o międzynarodowym zasięgu i wysokich współczynnikach IF, z czego trzy publikacje bezpośrednio dotyczą prezentowanej rozprawy. Jej prace były do tej pory cytowane w sumie 34 razy (bez autocytowań 29 razy), co dodatkowo potwierdza aktualność prowadzonych przez nią badań. Warto też zaznaczyć, że Doktorantka oprócz działalności publikacyjnej i uczestnictwa w konferencjach była też wykonawcą w projekcie badawczym finansowanym przez FNP, a także odbyła liczne krótkoterminowe staże zarówno w kraju (czterokrotnie na Uniwersytecie Jagiellońskim) oraz zagranicą (w USA oraz w Niemczech).

Bezspornie w trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej Doktorantka osiągnęła zamierzone cele, a przedstawiona dyskusja uzyskanych wyników jest merytorycznie poprawna i dokładna. Uzyskane rezultaty są wartościowe i wnoszą nowy, istotny wkład w zrozumienie mechanizmów oddziaływania niewielkich ilości wszechobecnych surfaktantów na właściwości modelowych błon biologicznych. Niemniej jednak w trakcie czytania rozprawy nasunęło mi się kilka uwag i wątpliwości, które w żaden sposób nie umniejszają mojej pozytywnej oceny pracy.

Natomiast mam nadzieję, że będą stanowiły podstawę do ciekawej dyskusji w trakcie publicznej obrony:

1. Czym podyktowany był wybór tak dokładnych stężeń surfaktantów (np. 2.3 $\mu\text{mol/L}$, 9.1 $\mu\text{mol/L}$) oraz buforu Tricine o $\text{pH} = 7.6$? Bufor ten nie należy do najczęściej wykorzystywanych w badaniach dotyczących modelowych błon biologicznych.
2. Nie wszystkie wartości parametrów charakteryzujących właściwości modelowych układów podawane są z błędem pomiaru (np. średnice hydrodynamiczne liposomów). Podanie błędu byłoby wskazane, zwłaszcza w sytuacjach, gdy wartości te niewiele się od siebie różnią: np. w tabeli 6 wartości średniej średnicy hydrodynamicznej liposomów DPPC w obecności zwiększającego się stężenia CTAB różnią się zaledwie o kilka nanometrów. Czy różnice te faktycznie są statycznie istotne i czy w związku z tym dyskusja wpływu stężenia tego surfaktantu jest zasadna?
3. W opisie wpływu surfaktantów na monowarstwy lipidowe tworzone na granicy faz woda-powietrze nieco brakuje ilościowego ujęcia obserwowanych różnic. Co prawda Autorka zaprezentowała takie wyliczenia we wnioskach pokazując obserwowane zmiany średniej powierzchni na cząsteczkę przy ciśnieniu 32 mN/m na rysunku 58 (niestety ponownie nie uwzględniając błędów wyznaczenia tych wartości średnich). Takie podsumowanie wpływu różnych surfaktantów na różnego rodzaju modelowe układy jest bardzo pomocne i znacząco ułatwia śledzenie końcowych wniosków. Niemniej jednak podanie wartości liczbowych dla zmian powierzchni w rozdziałach dotyczących dyskusji wyników dla konkretnych układów umożliwiłoby nieco dokładniejszą, bardziej ilościową analizę wpływu obecności surfaktantów niż tylko stwierdzenie, że jego obecność powoduje przesunięcie izoterm lipidów w kierunku większych powierzchni cząsteczkowych.
4. W przypadku modeli monowarstwowych istotny jest wpływ obecności wiązań nienasyconych w łańcuchach węglowodorowych lipidów. Obserwowane zmiany są jednak również zależne od ładunku związku powierzchniowo czynnego: dla ujemnie naładowanego SDS przesunięcie izoterm rośnie wraz ze wzrostem nienasylenia

łańcuchów, zaś dla dodatnio naładowanego DTAB maleje. W jaki sposób można by było wytłumaczyć te przeciwne zależności dla surfaktantów o przeciwnych ładunkach?

5. Bardzo ciekawe rezultaty zaprezentowane zostały w ostatnim podrozdziale dyskusji wyników dotyczącym wpływu obecności cholesterolu w modelowych błonach biologicznych na oddziaływania ze śladowymi ilościami surfaktantów. Idąc dalej tym tropem ciekawe byłoby również sprawdzenie, w jaki sposób obecność innych fosfolipidów niż fosfatydylocholina, w tym ujemnie naładowanych, wpływa na tego typu oddziaływania. Czy tego typu badania były wykonywane lub brane pod uwagę?

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Alicji Sęk spełnia wszystkie wymogi zwyczajowe i formalne stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.). W związku z tym **wnoszę o dopuszczenie mgr Alicji Sęk do dalszych etapów postępowania o nadanie Jej stopnia doktora nauk chemicznych**. Jednocześnie biorąc pod uwagę aktualność tematyki podjętej w ramach przygotowywania rozprawy doktorskiej, jej poziom naukowy i jakość, a także aktywność naukową i publikacyjną Autorki **wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej**.

Dorota Malinowska