



Recenzja rozprawy doktorskiej

Strona | 1

pt. "Biophysical characteristics and cellular studies of polyhydroxyoctanoate (PHO) – biodegradable and biocompatible polymer for biomedical applications"
autorstwa pana **mgr. Tomasza Witko**

Recenzowana rozprawa doktorska pt. „Biophysical characteristics and cellular studies of polyhydroxyoctanoate (PHO) – biodegradable and biocompatible polymer for biomedical applications” wykonana została przez Pana mgr. Tomasza Witko na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, pod kierunkiem dr hab. Zenona Rajfura jako promotora oraz dr Macieja Guzika jako promotora pomocniczego. Program badań realizowany był w ramach projektu NCBR grant Lider No. Lider /27/0090/L-7/15/NCBR/2016.

Zanieczyszczenie środowiska naturalnego stało się ważnym problemem XXI wieku. Niedegradowalne odpady, głównie plastiki, są wciąż masowo produkowane i stanowią poważne zagrożenie dla naszej Planety. Poszukiwanie nowych materiałów o właściwościach jakie posiadają niedegradowalne „plastiki” staje się poważnym wyzwaniem dla świata nauki. Pan mgr Tomasz Witko podjął to wyzwanie i zrealizował projekt, którego celem badawczym była ocena przydatności polihydroksyalkanianów o średniej długości łańcucha w zakresie zastosowań medycznych.

Recenzowana rozprawa zawiera się na 192 stronach i składa się z pięciu głównych rozdziałów: Wstępu, Opisu materiału i metod badawczych, Wyników eksperymentalnych, Opisu praktycznych i ekonomicznych celów badań oraz Dyskusji. Ponadto, rozprawa zawiera wykaz skrótów, streszczenie w języku angielskim i polskim, podziękowań, opisu celów rozprawy. Rozprawę kończy bibliografia zawierająca 230 pozycji, spis 105 rysunków, 37 tabel oraz materiały uzupełniające składające się z odnośników do stron internetowych wykorzystanych przy opracowywaniu wybranych części rozprawy.



Rozprawę rozpoczyna jednostronicowy rozdział opisujący cele projektu badawczego, w oparciu o wyniki którego Autor, pan mgr Tomasz Witko, napisał rozprawę. Dość jasno określono cel badań, natomiast **nie sformułowano tezy rozprawy doktorskiej**. Mam jednak nadzieję, że podczas obrony doktorant ją sformułuje skoro ma jej bronić.

Strona | 2

Następnie, czytelnik wprowadzany jest w tematykę badań. Obszerny wstęp charakteryzuje problem jakim jest zanieczyszczenie środowiska naturalnego niedegradowalnymi materiałami a następnie następuje wprowadzenie do biomateriałów. W rozdziale tym, Autor bardzo przystępnie dokonuje charakterystyki materiałów „przyszłości” jakimi niewątpliwie są biopolimery degradable. Opisano procesy syntezy i zastosowania poszczególnych, wykorzystywanych w pracy, polimerów. Opisano własności podłoży wykorzystywanych do hodowli komórkowych, budowę cytoszkieletu komórkowego oraz zjawisko migracji komórek.

W rozdziale poświęconym materiałom i metodom badawczym, doktorant opisuje proces przygotowania próbek, hodowli komórkowych – do badań wybrano linie komórkową fibroblastów mysich (MEF 3T3), oraz wykorzystywaną aparaturę i stosowane metody. Do badań wykorzystano mikroskopię fluorescencyjną, mikroskopię optyczną, konfokalną, nanoindentację oraz mikroskopię sił atomowych.

Obszerny i przemyślany rozdział zawierający wyniki bardzo dobrze oddaje charakter prowadzonych prac i konsekwentnie prowadzi czytelnika ścieżką poznawania tajników parametrów charakteryzujących badane materiały. Zakres wykonanych prac potwierdza konsekwencję realizacji założeń i celów rozprawy. Autor udowadnia, że jest ekspertem w swojej dziedzinie a prowadzone prace zaplanowano w starannie przemyślany sposób. Na bazie zestawionych wyników, czytelnik ma możliwość oceny przydatności polimeru - polihydroksyoktanianu (PHO) do zastosowań biomedycznych.

Rozdział opisujący praktyczne i ekonomiczne cele badań stanowi naturalne zamknięcie poruszanej we wstępie tematyki zanieczyszczenia środowiska. Autor wskazuje na obecne i przyszłe zastosowania polimerów z grupy PHA co stanowi pewnego rodzaju podsumowanie dyskusji w aspekcie „ideologicznym”. Natomiast podsumowanie badań znajduje się w ostatnim rozdziale rozprawy Dyskusja.



Dyskusja otrzymanych wyników stanowi podsumowanie badań, wskazuje na najistotniejsze ich wyniki. Muszę przyznać, że trochę brakuje mi postawienia przysłowiowej kropki nad i. Albowiem spodziewałem się nie tylko podsumowania i wykazania osiągnięcia celów pracy ale w niektórych przypadkach aż prosi się o wyciągnięcie wniosków z otrzymanych wyników. Choćby w zakresie stwierdzonych różnic w budowie cytoszkieletu komórek hodowanych a różnych podłożach. Czy zmiany te są istotnie dla komórek, ich proliferacji, czy funkcjonalności?

Strona | 3

Należy podkreślić, że rozprawa jest przygotowana bardzo starannie. Jest przemyślana, napisana poprawnym, nieskomplikowanym językiem i czyta się ją z wielką przyjemnością. Napisanie rozprawy w języku angielskim zapewnia jej szerszą poczytność a tym samym przydatność dla środowiska naukowego. Założone cele rozprawy zostały osiągnięte. Na uwagę zasługuje zastosowanie różnych uzupełniających się technik analitycznych, w tym obrazowania fluorescencyjnego, w wyniku których otrzymano kompleksowy obraz właściwości różnych podłoży polimerowych. Autor rozprawy udowodnił, że PHO jest materiałem biozgodnym, biodegradowalnym i może mieć różnorodne zastosowania nie tylko w medycynie ale także innych gałęziach przemysłowych.

Jednakże z obowiązku recenzenta muszę zwrócić również uwagę na drobne błędy edytorskie, które jednak nie umniejszają wartości rozprawy. Mam też parę drobnych uwag i pytań, na które z pewnością doktorant odpowie podczas obrony. I tak:

- str. 10 – 4 linijka od dołu – powinno być „dwuocetanem”.
- str. 34 tabela 1. i następne. Opis tabeli powinien być nad tabelą w przeciwieństwie do opisu rysunków.
- str. 39 – Tab. 2 powinno być „MPa”.
- str. 80 – pod wzorem definiującym współczynnik tarcia zapisano „6-7”. Proszę o wyjaśnienie co te cyfry oznaczają.
- str. 83 – poprawna nazwa Instytutu Fizyki Jądrowej PAN w języku angielskim brzmi „The Henryk Niewodniczański Institute of Nuclear Physics Polish Academy of Sciences”, Dopuszcza się użycia skrótu tej nawy i wtedy przyjmuje ona brzmienie „Institute of Nuclear Physics PAN”.



- str. 89 – Rys 47 przedstawia histogramy dla lokalnych modułów Yang'a określonych techniką AFM dla PHO. Proszę wyjaśnić dlaczego nie przedstawiono wyników dla PLA?
- str. 89 – Autor stwierdza, że *"In this study, the results obtained for both techniques were fairly well covered, however, it should be remembered that AFM is not a technique dedicated to Young's modulus measurements, therefore nanoindentation is more reliable method"* – Zatem, proszę wyjaśnić w jakim celu wykonano pomiary AFM skoro a priori wiadomo, że technika ta nie jest dedykowana do takich pomiarów co może prowadzić do nie wiarygodnych wyników. Polemizował bym też z tym stwierdzeniem, albowiem w literaturze można znaleźć wiele prac prezentujących wyznaczanie wartości modułu Younga techniką AFM.
- str. 92 – Proszę wyjaśnić co autor rozumie przez „wczesną apoptozę – early apoptosis” i w jaki sposób została ona stwierdzona. Czy nie stwierdzano innych faz apoptozy?
- str. 94 – brak referencji.
- str. 99 Rys. 53 Dlaczego pokazano 3 obrazy? Co reprezentują przedstawione obok obrazów komórek kolorowe rozkłady? Jakość tych ostatnich nie pozwala odczytać opisu osi, stąd trudno określić i porównać je między sobą.
- str. 103 Rys 60. Proszę skomentować dwuskładnikowy charakter rozkładu zaprezentowanego na rys 60A.
- str. 105, 107 W tytule powinno być „on” zamiast „od”.
- str. 111 Nie podano formuły (wzoru), na podstawie której dokonano obliczeń przemieszczenia komórek.
- str. 111 Rys 68. Proszę skomentować oznaczenia na rysunkach. Brak w opisie. Na rysunku po prawej zaznaczono kąty odchylenia kierunku migracji komórek. Wydaje się, że brak jest konsekwencji w oznaczeniach kątów. Jeśli tak, to wątpliwe stają się wyniki zawarte w tabelach od 22 do 28. Mam jednak nadzieję, że moje obawy nie są słuszne.
- str. 113 Rys 70. Szkoda, że autor nie zamieścił choćby jednego kolejnego obrazu przemieszczających się komórek.
- str. 169 Należało podać rok (2018) dyrektywy Parlamentu Europejskiego.



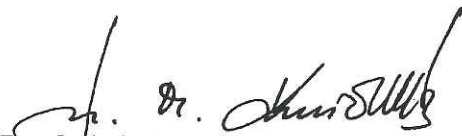
INSTYTUT FIZYKI JĄDROWEJ
im. Henryka Niewodniczańskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

- str. 171 Autor stwierdza, że biopolimer nie wywiera dodatkowego wpływu na zmiany morfologiczne komórek, a ponadto komórki silnie przylegają do podłoża. Na jakiej podstawie wyciągnięto taki wniosek? Co to znaczy „silnie” przylegają?
- str. 171 Autor dokonał porównania wielkości i rozkład włókien aktynowych oraz mikrotubul w komórkach hodowanych na różnych podłożach i zauważył różnice. Natomiast zabrakło konkluzji o czym te różnice świadczą w aspekcie choćby biogodności. Zatem proszę o komentarz celu przeprowadzonych badań.

Strona | 5

Podsumowując stwierdzam, że wyniki z przeprowadzonych badań potwierdzają realizację ich celów, porządkują stan naszej wiedzy w zakresie biodegradowalności i biogodności polimeru – polihydroksyoktanianu (PHO) oraz wskazują na różne aspekty jego zastosowań. Uważam, że ważnym osiągnięciem niniejszej rozprawy jest przeprowadzenie kompleksowych badań własności fizycznych i biogodności, mających na celu wskazanie użyteczności polimerów PHO w zastosowaniach biomedycznych.

Biorąc pod uwagę osiągnięcie oraz zakres prac jaki został wykonany przez pana mgr. Tomasza Witko w zaplanowanie i przeprowadzenie badań stwierdzam, że pomimo drobnych uwag, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim jakie określono w *Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 r. w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora i wnioskuję o dopuszczenie pana mgr. Tomasza Witko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.*


Prof. dr hab. Wojciech M. Kwiatek