

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Sebastiana Stanisława Makuch

pt: „Cukrowa pochodna cynkowej ftalocyjaniny jako innowacyjne narzędzie terapii fotodynamicznej w leczeniu łuszczycy”

Recenzja wykonana na podstawie pisma (znak RN-BM/1303/2024) zgodnego z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu podjętą w dniu 26 września 2024r. oraz nadesłanego przy nim egzemplarza rozprawy doktorskiej.

Rozprawę stanowi cykl czterech prac, w których Doktorant jest pierwszym autorem. Teksty poszczególnych elementów zostały opublikowane w latach 2020-2024. Oddziaływanie czasopism, w których ukazały się pozycje cyklu, mierzone poprzez Impact Factor oraz punkty MEiN, wynoszą łącznie odpowiednio: 17,03 oraz 520. Jest to istotna informacja, gdyż wskazuje na rangę prac przedłożonych jako rozprawa doktorska. Warto także zauważyć, że cały dorobek Doktoranta w postaci prac, których jest autorem lub współautorem na dzień złożenia dokumentów celem wszczęcia postępowania, to 40 pozycji, a łączny IF wynosi 139,7, a punkty KBN/MNiSW/MEiN 3830. Wskazano, że publikacje były cytowane 475 razy, a indeks Hirscha mgr S. Makuch wynosi 12. Pełny wykaz bibliografii Autora (tj. 40 pozycji) dla podania sumarycznej punktacji obejmuje prace objęte cyklem wyodrębnionym jako rozprawa, a także znajdują się w min pozycje niepunktowane – będące streszczeniami ze spotkań naukowych (patrz pozycje nr 5, 19, 24, 32 spisu zawartego w dokumentacji przewodu doktorskiego).

W przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej mgr Sebastian Stanisław Makuch, przedstawił opracowania oraz badania wykonane w zespole prof. Piotra Ziółkowskiego (promotor rozprawy) i przy udziale promotora pomocniczego dr Marty Woźniak, a początki pracy naukowej były głównie pod kierunkiem dr hab. Siddartha Agrawala. Rozprawę doktorską stanowią cztery prace opublikowane w recenzowanych czasopismach, z których jedna (Makuch S. i wsp., *Int J Mol Sci* 2022;23:9845) stanowi pracę poglądową, jedna (Makuch S. i wsp., *J Pharmacol Exp Ther* 2020, 373:204-212) pracę poglądową zawierającą także propozycje

własnych rozwiązań oraz dwie (Makuch S. i wsp., *Cell Physiol Biochem* 2023, 57: 54-62 oraz Makuch S. i wsp., *Pharmaceutics* 2024, 16: 838) prace mające charakter doniesień oryginalnych. Jak wskazano powyżej łączny Impact factor wymienionych prac wynosi 17,03 - co odpowiada 520 pkt wg listy rankingowej MEiN.

Otrzymany do recenzji egzemplarz zawiera 101 częściowo ponumerowanych stron, na których zawarto m.in. omówienie cyklu prac w kontekście rozprawy doktorskiej, w tym główny i szczegółowe cele badawcze oraz wnioski, kopie przedmiotowych publikacji, a także streszczenie w języku polskim i angielskim, sylwetkę naukową Doktoranta oraz stanowisko współautorów publikacji wykorzystanych w dysertacji. Dołączono uchwałę nr 035/2023/P2 Lokalnej Komisji Etyczne ds. doświadczeń na zwierzętach we Wrocławiu zawierającą zgodę na przeprowadzenie części eksperymentalnej.

W ślad za wskazaniem Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, proszę przyjąć poniższą ocenę jak następuje.

1. Ocena merytoryczna

a) ocena trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność

Cykl publikacji skupia się wokół problemów możliwości zastosowania nowych, częściowo hipotetycznych metod leczenia łuszczycy. Łuszczycą jako przewlekła choroba przebiegająca jako proces zapalny na podłożu autoimmunologicznym z elementami genetycznych uwarunkowań, występuje w różnych regionach świata u dorosłych ze zmienną częstością, tj. od ok. 1 (USA) do 8,5% (Norwegia), choć przyjmuje się najczęściej ok 2% populacji Europy i Ameryki Północnej (patrz: DOI: 10.1038/jid.2012.339 oraz DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61909-7). Zrozumienie choroby, której patogenezą nie jest do końca poznana, a przez to wyleczenie nie jest w pełni możliwe skłania do poszukiwania odpowiednich rozwiązań. Tym wyzwaniem odpowiada rozprawa doktorska mgr S. Makuch. W świetle dostępnych w bazach danych opracowań, podjęty temat jest ważny, a propozycje wprowadzenia modyfikacji terapeutycznych terapii fotodynamicznej oryginalne.

b) Ocena uzyskanych rezultatów i ich znaczenie dla nauki i praktyki

Przedstawione w trzech, z czterech w cyklu, pracach wyniki badań własnych dotyczą mechanizmów działania transportera glukozy (GLUT-1) przy wykorzystaniu konstelacji cytokin prozapalnych oraz imikwidomu. Badania wpisują się w nurt badań prowadzonych przez inne

zespoły. W ocenianej dysertacji Autor przedstawił nie tylko ocenę poziomu zwiększenia ekspresji GLUT-1, ale wzbogacił ją (w warunkach *in vitro*) o ocenę fotoksyteczności pochodnych cynkowej ftalocyjaniny, która jest transportowana do keratynocytów. Przedstawiono jednoznaczne wyniki wskazujące na rolę stymulacji gromadzenia fotouczulaczy w komórkach pod wpływem różnych cytokin prozapalnych. Poczynione badania uzyskały uznanie, czego dowodem jest opublikowanie oryginalnych wyników w czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania. Poczynione obserwacje, po odpowiedniej adaptacji do warunków *in vivo* u ludzi – mam nadzieję – będą mogły być wykorzystane w terapii pacjentów z łuszczycą. Prowadzone badania w jednoznaczny sposób łączą możliwości badań podstawowych ze spodziewaną użytecznością kliniczną.

c) Poprawność formalno-językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Ze względu na fakt, że dysertacja składa się z cyklu publikacji, za jakość „obróbki” językowej odpowiada wydawnictwo czasopism, stąd pominię tę część oceny. Niemniej jednak, w przedłożonym omówieniu w języku polskim, znalazłem kilka drobnych uchybień. Określenia „*in vitro*” i „*in vivo*” zwykle są zapisywane są kursywą, jeśli występują w tekście pracy w języku polskim, co zostało nieuwzględnione na stronie 7 w wierszach 11 i 12 od góry. Ponadto, w tekście znajdują się dość dobrze „zadomowione” w języku zawodowym (potocznym) słowa, które można zastąpić bardziej „klasycznymi” określeniami. Wśród omawianych określeń znajdują się następujące: „selektywność” zamiast polskiego „wybiórczość”, „akumulację” zamiast „nagromadzenie”, „lokalizowały się preferencyjnie” zamiast być może nieco dłuższego „gromadziły się przede wszystkim (lub głównie, albo najczęściej)”, „wysoki potencjał” zamiast „o spodziewanych dużych możliwościach”, czy „kondycja skóry” zamiast „stan skóry”.

2. ocena metodologiczna

a) dobór literatury, umiejętność wykorzystania źródeł

Ze względów przytoczonych powyżej, muszę stwierdzić, że dysertacja składająca się z cyklu publikacji, została w tym zakresie już poddana ocenie w trakcie recenzji redakcyjnych. Niemniej jednak, po analizie spisu bibliograficznego w poszczególnych publikacjach, należy stwierdzić, że każda zawiera odniesienia do publikacji polskich autorów, a także zawarto prace wykonane w zespole, którego Doktorant jest częścią. Warto ten element podkreślić, gdyż taka promocja dokonań zespołów pracujących w Polsce warta jest zauważenia.

b) poprawność formułowania problemów i hipotez

W poszczególnych pracach cyklu, założenia zostały odpowiednio sformułowane, a wnioski wynikające z opracowania prac innych autorów (jak w pracach przeglądowych) lub po dyskusji wyników własnych (jak w pracach oryginalnych) są poprawnie zredagowane. Zostało to oczywiście wcześniej poddane recenzji w fazie przyjmowania prac w poszczególnych redakcjach. W opracowaniu w języku polskim, będącym podsumowaniem i omówieniem cyklu prac, przedstawiony główny cel badań (rozdz. 3.2) i problem badawczy, a także cele szczegółowe pracy (rozdz. 3.3) zostały, odpowiednio sformułowane, tj. od założeń ogólnych, do precyzyjnych tez badawczych. Wnioski (rozdz. 3.6) przedstawione w podsumowaniu opracowania zasadniczo odpowiadają celom. Mają one charakter ogólny i być może podobne wnioski można wysnuć z nieco inaczej poprowadzonych badań i odmiennie sformułowanych celów. Nie jest to w żadnym wypadku uwaga szczegółowa. Taki zapis może świadczyć o szerokim spojrzeniu Autora na prowadzone liczne badania, jednak w typowym układzie rozprawy doktorskiej wyprowadzone wnioski powinny zasadniczo odpowiadać bezpośrednio na postawione cele. Jako główny cel wskazano „...ocena metody glikokoniugacji cynkowej ftalocyjaniny oraz jej potencjalnego zastosowania...”. Czytając cele, miałem przekonanie, że Autor skupi się na chemicznym aspekcie najbardziej wydajnego uzyskania produktu glikokoniugacji, a nie na efektywności wybranej pochodnej – jak wynika z wniosków: „koniugat Glu-4-ZnPc-P, po podaniu dożylnym i naświetlaniu, prowadzi do redukcji wskaźnika PASI...”.

c) trafność doboru metod i narzędzi badawczych, umiejętność ich zastosowania

Wykazane w pracach liczne zastosowane metody i narzędzia badawcze są adekwatne do realizacji postawionych celów prac. Autor umiejętnie się nimi posługuje oraz właściwie interpretuje uzyskane wyniki. Ta część recenzji również została potwierdzona przez recenzentów poszczególnych czasopism.

d) poprawność układu pracy i struktury podziału treści

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska w tym zakresie została przygotowana prawidłowo.

Po dokonaniu oceny formalnej pracy, a przed przedstawieniem ostatecznego wniosku,

w trakcie lektury poszczególnych prac zainteresowanie moje wzbudziły elementy przedstawione w pracy nr 2 cyklu (Makuch S. i wsp., *Cell Physiol Biochem* 2023, 57: 54-62). W części omawiającej wyniki, znajduje się jednoznaczne wskazanie, że w komórkach HaCaT cytokiny prozapalne IL-6, IL-17, IL-23, IL-36 powodują znaczące zwiększenie ilości receptora GLUT-1, jeśli oznaczenie wykonuje się wykorzystując RNA z poszczególnych grup badawczych i poddając je odpowiednim dalszym procesom pozwalającym na dokonanie ostatecznej oceny (patrz ryc. 1 omawianej pracy). W dalszej części wyników, przy przedstawieniu ilości GLUT-1 ocenianych metodą Western Blot, poziomy dla IL-23 oraz TNF-a są najmniejsze spośród badanych cytokin – ale znacząco wyższe niż w kontroli – a przy tym dla TNF-a w zasadzie nieco wyższe niż dla IL-23 (ryc. 5 tamże). Natomiast przedstawiona ilość GLUT-1 na podstawie intensywności fluorescencji sygnału (patrz ryc. 4) wskazuje na wysoki poziom IL-23, a dla IL-6 znacząco niższy niż przy wykorzystaniu innych omawianych technik; w tej części wyników poziom TNF-a jest niewiele wyższy od kontroli. W przedstawionej dyskusji w pracy oryginalnej, ani w podsumowaniu cyklu prac nie znalazłem odniesienia się do różnic uzyskiwanych wyników w stosunku do wybranego parametru, w zależności od zastosowanej techniki, ani stwierdzenia, który z pomiarów i na jakich zasadach został uznany za „ważniejszy”. Mimo przedstawionych powyżej różnic w publikacji, autorzy jednoznacznie wskazują, że TNF-a odgrywa jedynie nieznaczną rolę w stymulacji GLUT-1.

Wniosek końcowy

Podsumowując ocenę przedstawionej rozprawy doktorskiej mgr Sebastiana Stanisława Makuch stwierdzam, że wskazane w założeniach cele zostały jasno sprecyzowane, a w toku prac badawczych zrealizowane. Wykorzystano nowoczesne techniki badawcze. Sformułowano poprawne wnioski z przeprowadzonych badań w świetle dyskutowanych doniesień innych autorów, a także zredagowano doskonałe podsumowanie wiedzy wynikającej z prac innych zespołów w zakresie szeroko pojmowanych zagadnień łuszczycy. Zawarte powyżej uwagi są wyrazem swobody recenzenta do wyrażenia własnego poglądu niezależnie od faktu, że prace wcześniej podlegały procesowi recenzji wydawniczych.

Po zapoznaniu się z nadesłaną dokumentacją, przedłożony cykl prac jako podstawę bieżącego postępowania oceniam pozytywnie. **Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. Art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym**

i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668). Ze względu na zakres poruszanych zagadnień oraz bardzo wysoki IF prac, które stanowią cykl publikacji, w którym doktorant jest pierwszym autorem, **wnoszę o wyróżnienie pracy.** Przeważając, przedkładam Radzie Dyscypliny Nauki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie mgr Sebastiana Stanisława Makuch do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. zw. dr hab. n. med. Andrzej Marszałek

Swarzędz, dnia 13 października 2024r.