



Lublin, 08.05.2026

dr hab. n. med. Konrad Kubiński, prof. KUL
Katedra Biologii Molekularnej
Instytut Nauk Biologicznych
Wydział Medyczny
Katolicki Uniwersytet Lubelski Ja na Pawła II

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Rudawskiej pt.

„Nowe strategie ukierunkowanego dostarczania nanocząstek węgla boru do środowiska nowotworowego w terapii borowo-neutronowej”

I. Znaczenie badań opisanych w rozprawie doktorskiej

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została napisana pod kierunkiem dr hab. Elżbiety Pajtasz-Piaseckiej, prof. PAN (promotor) i dr inż. Bożeny Szermer-Olearnik (promotor pomocniczy). Praca doktorska została przygotowana w Zakładzie Onkologii Doświadczalnej, w Laboratorium Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej. Badania przedstawione w rozprawie były realizowane w ramach dwóch projektów finansowanych z grantów NCN zdobytych w konkursach OPUS 17 i PRELUDIUM 21.

Przedmiotem badań opisanych w rozprawie doktorskiej jest selektywne dostarczanie wysokich stężeń izotopu boru-10 do środowiska nowotworowego z zastosowaniem dwóch systemów nośników. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę i zaprezentowane w rozprawie znacznie poszerzają wachlarz narzędzi stosowanych w terapii borowo-neutronowej.

Terapia borowo-neutronowa jest rodzajem celowanej radioterapii, w której komórki nowotworowe zawierające bor są niszczone po napromienieniu wiązką neutronów. Pomimo wieloletnich badań nad rozwojem tej alternatywnej metody terapii, jej zastosowanie w praktyce klinicznej jest ograniczone. Terapia borowo-neutronowa jest dedykowana zwłaszcza pacjentom z nowotworami zlokalizowanymi w trudno dostępnych miejscach, takich jak glejaki, czerniaki i nowotwory głowy i szyi. Jednym z wyzwań stojących przed badaczami pracującymi nad rozwojem tej terapii jest selektywne dostarczanie do komórek nowotworowych wysokich stężeń izotopu B-10, który pod

wpływem promieniowania neutronowego emituje promieniowanie α i γ , niszczące komórki nowotworowe, przy jednoczesnym oszczędzaniu zdrowych tkanek. Innym wyzwaniem jest dobór związków boru, tak aby dostarczyć do komórek nowotworowych terapeutyczną dawkę B-10, przy jednoczesnym zachowaniu niskiej toksyczności ogólnoustrojowej.

Pomimo licznych badań klinicznych terapia borowo-neutronowa nadal pozostaje stosunkowo nową metodą. Pierwszym krajem, który w 2020 roku dopuścił jej stosowanie w szpitalach, była Japonia. Widać zatem, że dalsze badania nad rozwojem tej terapii są bardzo istotne, aby metoda ta została wprowadzona w innych krajach jako alternatywa dla tradycyjnej radioterapii.

Biorąc pod uwagę powyższe fakty, Doktorantka wraz z Zespołem podejmuje dwa wspomniane wyżej wyzwania. Po pierwsze, wskazuje węgiel boru jako obiecujące źródło izotopu B-10, a także przeprowadza badania nad dwoma rodzajami biologicznych nośników tej cząsteczki. Tematyka podjęta w rozprawie jest aktualna, a problemy w niej rozwiązywane wpisują się w nurt współczesnej onkologii.

II. Formalna ocena rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa liczy 229 stron, a jej zasadniczą część stanowi pięć artykułów (2 przeglądowe i 3 badawcze), których współautorką jest Doktorantka. Należy zauważyć, że udział Doktorantki jest wiodący we wszystkich artykułach, co potwierdzają oświadczenia współautorów. Rozprawa doktorska, którą otwiera Streszczenie, składa się z trzynastu rozdziałów: 1. Wprowadzenie, 2. Cel i zakres rozprawy doktorskiej, 3. Lista publikacji stanowiących rozprawę doktorską, 4. Omówienie publikacji, 5. Podsumowanie i wnioski, 6. Piśmiennictwo, 7 – 11. Publikacje I – V, 12. Oświadczenia współautorów i 13. Osiągnięcia naukowe.

Rozprawa została przygotowana starannie pod względem graficznym, edytorskim i językowym.

Reasumując, strona formalna przedstawionej rozprawy doktorskiej prezentuje odpowiedni poziom i nie budzi zastrzeżeń.

III. Merytoryczna ocena rozprawy

Celem rozprawy doktorskiej było opracowanie dwóch systemów dostarczania węgliku boru do środowiska nowotworowego, które mogłyby znaleźć zastosowanie w terapii borowo-neutronowej. Aby osiągnąć ten cel Doktorantka zrealizowała dwa zadania badawcze. Pierwsze z nich obejmowało ocenę skuteczności dostarczania nanocząstek węgliku boru funkcjonalizowanych przeciwciałami skierowanymi przeciwko dwóm receptorom błonowym (EGFR i LDLR). Drugie zaś polegało na porównaniu potencjału makrofagów, pochodzących z dwóch źródeł, do pochłaniania i transportu nanocząstek B₄C.

Badania przeprowadzone w celu realizacji powyższych zadań zostały opisane w Publikacjach II, IV i V. Pozostałe dwie prace stanowią przegląd stanu wiedzy i badań skoncentrowanych wokół rozwoju terapii borowo-neutronowej.

Publikacja I, która ukazała się w czasopiśmie *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, przedstawia podstawy działania terapii borowo-neutronowej z uwzględnieniem jej klinicznej historii. Autorka opisuje w niej wady i zalety różnych źródeł neutronów, a także trzy generacje nośników boru. Napisanie tego artykułu wzbogaciło wiedzę Doktorantki na temat terapii oraz ułatwiło przygotowanie protokołów wykorzystanych w kolejnych pracach badawczych.

Publikacja II, która ukazała się w czasopiśmie *Journal of Nanomedicine*, dotyczy funkcjonalizacji powierzchni nanocząstek B₄C przeciwciałami monoklonalnymi anty-EGFR i anty-LDLR. W pracy porównano skuteczność dostarczania B₄C za pomocą tych dwóch przeciwciał do komórek rakowych trzech linii o różnym poziomie ekspresji dwóch receptorów. W toku prac badawczych oceniono ogólną toksyczność sfunkcjonalizowanych nanocząstek, sprawdzono ich pochłanianie przez komórki nowotworowe, a także zmierzono w nich zawartość boru. Analiza wyników wykazała, że nanocząstki funkcjonalizowane przeciwciałami, zwłaszcza anty-LDLR, są lepiej internalizowane i kumulowane, niż ich niemodyfikowane odpowiedniki. Autorka rekomenduje tę metodę modyfikacji nanocząstek z wykorzystaniem innych celów molekularnych zlokalizowanych na powierzchni komórek nowotworowych.

Publikacja III, która ukazała się w czasopiśmie *Journal of Nanomedicine*, dotyczy drugiej strategii dostarczania nanocząstek węgla boru do komórek nowotworowych, polegającej na zastosowaniu makrofagów. W pracy scharakteryzowano komórki żerne o działaniu przeciw- (M1) i pronowotworowym (M2), oraz makrofagi TAM. W artykule główny nacisk położono na omówienie koncepcji „konia trojańskiego”, czyli zastosowania makrofagów jako nośników, np. nanocząstek, w terapii przeciwnowotworowej. Napisanie manuskryptu poszerzyło wiedzę Doktorantki na temat biologii makrofagów i ich potencjału jako nośników leków, oraz ułatwiło opracowanie protokołów badawczych wykorzystanych w dalszych etapach realizacji postawionego celu.

Publikacja IV, która ukazała się w czasopiśmie *Journal of Nanomedicine*, dotyczy optymalizacji elementów modelowego układu nośnikowego opartego na makrofagach. Po pierwsze, Doktorantka wybrała odpowiednie, nietoksyczne dla komórek nośnikowych stężenie węgla boru, testując dwa preparaty (B₄C 1 i B₄C 2), różniące się rozmiarem nanocząstek. Badania wykonano z zastosowaniem makrofagów pochodzących zarówno z linii komórek, jak i ze szpiku kostnego myszy. Oceniono zdolność komórek żernych do pochłaniania nanocząstek, a następnie zbadano ich właściwości migracyjne. Analiza uzyskanych wyników wykazała, że ze względu na niższą toksyczność, znaczny wychwyt przez makrofagi i zachowanie przez komórki zdolności do migracji, bardziej obiecujący jest preparat B₄C 1 zawierający nanocząstki o mniejszym rozmiarze (32 nm).

W Publikacji V, która jest preprintem pracy opublikowanym w repozytorium bioRxiv, Doktorantka opisuje kontynuację prac badawczych przedstawionych w poprzednim artykule. W badaniach skupiono się na preparacie B₄C 1 oraz na makrofagach pochodzenia szpikowego z trzech populacji (M₀, M₁, M₂). Analiza ICP-MS wykazała najwyższe stężenie nanocząstek w makrofagach M₁. Test zarysowania wykazał, że najszybciej migrowały makrofagi M₀, zaś zastosowanie modelu bariery krew-mózg dowiodło, że trzy populacje wykazują podobne zdolności migracyjne. Kolejnym krokiem było zbadanie oddziaływania makrofagów niosących nanocząstki z komórkami glejaka w warunkach hodowli 3D. Wykazano, że 6-dniowy kontakt komórek glejaka z makrofagami traktowanymi nanocząstkami nie wpływał na przeżycie

sferoidów. Finalnie, Doktorantka stwierdza, że makrofagi pochodzące ze szpiku kostnego mogą być użyteczne w dostarczaniu znacznych ilości B₄C do środowiska nowotworowego, w tym w raku mózgu.

W Podsumowaniu i wnioskach Doktorantka konkluduje, że wszystkie uzyskane i opisane wyniki mają potencjał do dalszego rozwoju. Ponieważ wszystkie badania były przeprowadzone w warunkach *in vitro*, ocena ich klinicznej przydatności w terapii borowo-neutronowej powinna być dokonana w badaniach *in vivo*.

IV. Uwagi i pytania recenzenta

1. Który z uzyskanych wyników Doktorantka uważa za najważniejsze osiągnięcie naukowe oraz czy zamierza kontynuować prace badawcze w podjętym temacie, a jeśli tak, to w jakim kierunku?
2. Czy w badaniach opisanych w Publikacji II uwzględniono kontrolę w postaci komórek traktowanych wyłącznie przeciwciałami? Jeśli tak, to jaka część efektu toksycznego wynika z działania przeciwciał, a jaka z obecności węgla boru?
3. Jakie ograniczenia Doktorantka dostrzega w obu zbadanych strategiach dostarczania nanocząstek węgla boru do środowiska nowotworowego, które mogą utrudnić ich zastosowanie w terapii borowo-neutronowej?
4. Jakie są dalsze losy Publikacji V przedstawionej w rozprawie doktorskiej?

V. Wnioski końcowe

Problematyka badawcza podjęta przez Doktorantkę i opisana w artykułach przedstawionych w rozprawie doktorskiej jest bardzo aktualna, a uzyskane wyniki mają istotne znaczenie dla rozwoju terapii borowo-neutronowej. Ponadto bardzo wysoko oceniam osiągnięcia naukowe przedstawione w Rozdziale 13. Dorobek publikacyjny, posiadany przez Doktorantkę na obecnym etapie kariery naukowej, oceniam pozytywnie. Na szczególną uwagę zasługuje bardzo wysoka aktywność projektowa

Doktorantki, co świadczy o tym, że jej kompetencje są wysoko oceniane przez współpracowników i kierowników projektów.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) oraz wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne.

Równocześnie, ze względu na wysoki poziom merytoryczny rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Rudawskiej, a także niepodważalną wartość aplikacyjną uzyskanych wyników, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN o wyróżnienie rozprawy.

Kierownik
Katedry Biologii Molekularnej

dr hab. Konrad Kubiński, prof. KUL