



Prof. dr hab. inż. Paweł Chmielarz  
Kierownik Katedry Chemii Fizycznej  
e-mail: p\_chmiel@prz.edu.pl

Rzeszów, 14.12.2022 r.

## Recenzja

pracy doktorskiej Pana lek. Michała Osuchowskiego  
pt. „Zastosowanie czasów relaksacji rezonansu magnetycznego do oceny efektów  
terapii fotodynamicznej raka prostaty”

Recenzja została przygotowana w odpowiedzi na pismo prof. dr hab. n. med. Artura Mazura, Prorektora ds. Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego, nr CM/5200/O-100/22 z dnia 15 listopada 2022 roku informujące o tym, że Rada Naukowa Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego powołała mnie na recenzenta w tym postępowaniu. Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi ponadto umowa z Uniwersytetem Rzeszowskim nr GU/2022/11/00321.

Recenzję oparto na przekazanych mi materiałach, czyli zawartości pracy doktorskiej obejmującej głównie opracowanie Doktoranta wraz z załączonymi czterema publikacjami oraz oświadczeniami ich współautorów i zgodą bioetyczną.

### Informacje dotyczące pracy doktorskiej i dorobku naukowego

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została zrealizowana w Zakładzie Biochemii i Chemii Ogólnej Instytutu Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego pod kierunkiem dr hab. n. med. Davida Aebisher, prof. UR. Podstawową część rozprawy obejmuje cykl czterech artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe, wymienionych w dysertacji i opatrzonych wspólnym tytułem:

„Zastosowanie czasów relaksacji rezonansu magnetycznego do oceny efektów terapii fotodynamicznej raka prostaty” (rozdział *Nota informacyjna*). Wykaz ten uzupełniają rozdziały stanowiące wprowadzenie w tematykę badawczą (*Uzasadnienie wyboru tematu* oraz *Terapia fotodynamiczna, cel eksperymentu i tezy badawcze*), opis problematyki poruszanej w publikacjach z ich kopiami (*Metodologia eksperymentu, Wyniki badań, Dyskusja, Opis publikacji nr 1 wraz ze skanem pracy, Opis publikacji nr 2 wraz ze skanem pracy, Opis publikacji nr 3 wraz ze skanem pracy, Opis publikacji nr 4 wraz ze skanem pracy*) wraz z wnioskami (rozdziały *Podsumowanie* i *Wnioski*), a także objaśnienia stosowanych skrótów (rozdział *Wykaz skrótów*), oraz krótkie streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Dalej w rozprawie zamieszczona jest zgoda bioetyczna (rozdział *Zgoda bioetyczna*), a następnie deklaracje współautorów publikacji dotyczące udziału w ich powstaniu (rozdział *Oświadczenia współautorów*).

W autoreferacie zawarty jest również wykaz osiągnięć naukowych Doktoranta (rozdział *Curriculum Vitae*), w tym zestawienie udziału w konferencjach oraz wykaz rozdziałów w monografiach (również pokonferencyjnych), a także zestawienie danych obejmujących wartość wskaźnika *Impact Factor* (IF) kolejnych publikacji. Doktorant legitymuje się sumarycznym dorobkiem naukowym na bardzo dobrym poziomie, w postaci 4 rozdziałów w zagranicznym wydawnictwie monograficznym (*Nova Science Publishers*), 4 rozdziałów w krajowych wydawnictwach pokonferencyjnych, oraz 16 opublikowanych własnych prac oryginalnych i przeglądowych ujętych częściowo w bazie *Journal Citation Reports* (JCR) o sumarycznej wartości 5-letniego wskaźnika *Impact Factor* (IF<sub>5Y</sub>) równej 22 (w bazie Web of Science ujęto 7 prac). Prace lek. Michała Osuchowskiego były już cytowane ponad 50 razy (bez autocytowań) według Web of Science, przy czym jego indeks Hirscha wynosi 4 (stan na dzień 14.12.2022). Listę dorobku zamyka spis 5 wystąpień konferencyjnych w formie komunikatów ustnych. W ocenie osiągnięć Doktoranta należy spojrzeć również na aktywność w zdobywaniu funduszy na badania naukowe, czego w autoreferacie nie wykazano.

W dysertacji zamieszczone są kopie 4 publikacji (prace nr 1–4) stanowiących rozprawę doktorską, a opublikowanych w większości w pracach typu open access:

*Life, Diagnostics* i *International Journal of Molecular Sciences*. Wszystkie te czasopisma wydawane są przez wydawnictwo MDPI, którego polityka publikowania stanowi przedmiot nieustannej dyskusji w skali międzynarodowej. Niemniej jednak, rolą recenzenta rozprawy doktorskiej nie jest ocena czasopisma, a wyników pracy badawczej Autora, które niewątpliwie są wartościowe (o czym napiszę w dalszej części recenzji). Informacje dotyczące procentowego udziału Doktoranta w prezentowanych pracach mają w tym przypadku znaczenie, ze względu na wieloautorski charakter wszystkich wymienionych w rozprawie publikacji. Ponadto na podstawie zamieszczonych w artykułach opisów (sekcja „Author Contributions”) możliwe jest jednoznaczne potwierdzenie jaki jest wkład Doktoranta w powstanie wymienionych prac.

### **Praca doktorska – wymogi formalne**

Praca doktorska lek. Michała Osuchowskiego obejmuje 4 artykuły – 2 prace przeglądowe i 2 własne prace oryginalne – uzupełnione autorskim opracowaniem. Artykuły naukowe były opublikowane w czasopismach zagranicznych wydawnictwa MDPI (*Life, Diagnostics* i *International Journal of Molecular Sciences*) oraz Elsevier (*Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*). Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF<sub>5Y</sub>) wymienionych czasopism, w których zostały opublikowane prace wynosi 14,4 (według Web of Science), przy czym średnia wartość IF<sub>5Y</sub> monotematycznych publikacji wynosi 3,6. Prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej były cytowane 23 razy (bez autocytowań) według Web of Science.

W tej części recenzji wróć jeszcze do kwestii wyboru czasopism, do których zgłoszono wyniki prac badawczych lek. Michała Osuchowskiego. Wydaje mi się, że opublikowanie niemalże całego cyklu artykułów w czasopismach MDPI (3 na 4 prace) było pewnego rodzaju „szybszą ścieżką”. Uważam, iż warto jest podjąć wysiłek publikowania własnych wyników w bardziej wymagających czasopismach, np. z takich wydawnictw jak ACS, Elsevier, RSC, Wiley czy chociażby Springer Nature. Niewątpliwie wiąże się to ze znacznie dłuższym czasem publikacji,



niemniej jednak skutkuje zmianą ilości w jakość. Z drugiej jednak strony, analizując specyfikę zatrudnienia Doktoranta, wybór czasopism wydają się być usprawiedliwiony.

Z analizy zapisów zawartych w „deklaracjach” współautorów publikacji (sekcja „Author Contributions” w każdym z artykułów) wynika, że wkład Doktoranta wraz z Promotorem w powstanie 4 publikacji był wiodący i polegał na opracowaniu koncepcji badań, ich przeprowadzeniu wraz z analizą oraz opracowaniem uzyskanych wyników w formie publikacji sfinalizowanych zredagowaniem manuskryptów, co jest istotne przy ocenie wpływu pracy Doktoranta na rozwój dyscypliny naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Udział pozostałych autorów polegał najczęściej na przeprowadzeniu niektórych eksperymentów oraz współudziale w opracowaniu wyników. Pierwszym autorem trzech z wskazanych w cyklu publikacji jest Doktorant, podczas gdy autorem do korespondencji jednej z prac jest Promotor omawianej rozprawy doktorskiej.

Przytoczone informacje świadczą o wysokim poziomie merytorycznym prezentowanych wyników prac naukowych w formie dysertacji, stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia naukowego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk o zdrowiu oraz są potwierdzeniem ważności prowadzonych badań. W związku z powyższym nie mam wątpliwości, że wymogi ustawowe i zwyczajowe przyjęte przez krajowe placówki akademickie dla tej formy prezentacji rozprawy doktorskiej zostały spełnione.

## **Praca doktorska – ocena merytoryczna**

### *Aktualność tematyki badawczej*

Przedstawiona do oceny praca doktorska dotyczy oceny efektów terapeutycznych terapii fotodynamicznej (PDT) w raku prostaty. Terapia fotodynamiczna (o czym pisze Doktorant w autoreferacie) polega na podaniu leku w postaci



tw. fotouczulacza, tak aby zgromadził się on w tkankach pacjenta. Fotouczulacz poddany naświetlaniu staje się źródłem wolnych rodników tlenu, które niszczą otaczające komórki. Oznacza to, że lek zadziała miejscowo, tylko na obszarze gdzie doszło do jego aktywacji światłem, oszczędzając tkanki zdrowe. Autor rozprawy stwierdza, iż taki model terapii jest już stosowany w przypadku licznych schorzeń np. chorób dermatologicznych czy nowotworów i zmian przednowotworowych przełyku, a w ostatnim czasie, także w leczeniu zlokalizowanego raka gruczołowego zrazikowego prostaty niskiego ryzyka. Do tego celu stosowano szereg różnych fotouczulaczy, takich jak chociażby chlorek m-tetrahydroksyfenylu. W tym kontekście Doktorant w pracy podjął próbę oceny skuteczności w niszczeniu komórek raka prostaty innych fotouczulaczy, głównie takich, które można podawać doustnie – protoporfiryny IX oraz rózu bengalskiego. Wybór wymienionych substancji chemicznych należy uznać za jak najbardziej słuszny, gdyż są to związki o niskiej toksyczności, równocześnie dobrze przebadane pod kątem bezpieczeństwa stosowania u pacjentów. Przytoczone argumenty są poprawne jednak wymagają rozwinięcia tej tematyki, na co zwracam uwagę w sekcji pt. *Uwagi krytyczne i pytania*.

W tym ujęciu jedną z metod kontroli zastosowanej formy leczenia może być ocena parametrów fizyko-chemicznych tkanki zdrowej i nowotworowej w oparciu o ocenę czasów relaksacji wody za pomocą klinicznego rezonansu magnetycznego (MRI). Inną alternatywną technikę stanowić może metoda fotodynamiczna stosowana do oszacowania różnic pomiędzy tkanką nowotworową i zdrową. W tym przypadku różnice są spowodowane inną zdolnością produkcji tlenu singletowego w analizowanych tkankach.

Wybór metodyki badań dokonany przez Doktoranta jest aktualny, ponieważ metoda fotodynamiczna oraz ocena parametrów fizykochemicznych w MRI stanowią kluczowe techniki w leczeniu i diagnostyce raka prostaty. Zastosowanie MRI umożliwia dobranie odpowiedniej dawki leku, optymalny czas naświetlania i długość fali światła inicjującego reakcję oraz detekcję ewentualnych zjawisk niepożądanych.



Reasumując, uważam, że podjęcie pracy w tak ważnej dziedzinie wiedzy, jaką jest analiza skuteczności terapii fotodynamicznej z wykorzystaniem różnych fotouczulaczy spełnia kryteria, jakim powinna odpowiadać praca doktorska. Oceniana dysertacja wpisuje się w trend prac badawczych podejmowanych w wielu światowych ośrodkach, w tym także w zespole dr hab. n. med. Davida Aebisher, prof. UR, m. in. nad terapią fotodynamiczną. W tym kontekście obie zastosowane metody (badanie histopatologiczne oraz rezonans magnetyczny) umożliwiają ocenę efektów leczenia, zwiększając skuteczność leczenia PDT, co stwarza szansę na zastosowanie tej metody również w badaniach *in vivo* pacjentów z rakiem prostaty.

### ***Zakres pracy i fachowość Doktoranta w doborze i interpretacji metod badawczych***

Przedmiotem publikacji pn. „*The use of upconversion nanoparticles in prostate cancer photodynamic therapy*” (praca nr 1) był przegląd artykułów opisujących eksperymentalne metody leczenia raka prostaty z zastosowaniem nanocząstek, które umożliwiają zwiększenie efektywności terapii fotodynamicznej. Doktorant wskazał w tym miejscu na bardzo duże możliwości modyfikacji wspomnianych związków, celem uzyskania określonej ich charakterystyki, przykładowo jako fotouczulacza, a zarazem leku przeciwnowotworowego. Do tej grupy obiecujących substancji chemicznych zaliczono m. in. doksorubicynę i docetaksel.

W drugiej pracy przeglądowej pn. „*Photodynamic therapy for prostate cancer - A narrative review*” (praca nr 2) lek. Michał Osuchowski podjął się przeanalizowania szeregu artykułów tematycznie związanych z terapią fotodynamiczną w leczeniu raka prostaty. Dokonał przy tym przeglądu PDT jako jednej z metod aktywnego leczenia zlokalizowanego raka prostaty niskiego ryzyka w świetle bieżących badań klinicznych. W przytoczonej pracy scharakteryzowano mechanizmy i metody badań klinicznych z zastosowaniem takich fotouczulaczy jak chlorek *m*-tetrahydroksyfenylu, protoporfiryna IX, moteksafina lutetu, padoporfina i padeliporfina. Dokonany przegląd literatury umożliwił zaplanowanie koncepcji





prac badawczych mających na celu analizę skuteczności protoporfiryny IX i rózu bengalskiego w terapii fotodynamicznej raka prostaty *in vitro*.

W następnych etapach badań Doktorant podjął się analizy terapii z wykorzystaniem rózu bengalskiego, która okazała się skuteczną metodą niszczenia komórek raka prostaty, czego efektem było opublikowanie pracy pn. „*Photodynamic therapy-adjunctive therapy in the treatment of prostate cancer*” (praca nr 3). W przytoczonej publikacji potwierdzono, iż zarówno zwiększone stężenie fotouczulacza, jak i podwyższony poziom tlenu przyczyniają się do wzrostu skuteczności efektu terapeutycznego.

W kolejnej publikacji pn. „*An analysis of the effects of in vitro photodynamic therapy on prostate cancer tissue by histopathological examination and magnetic resonance imaging*” (praca nr 4) Autor postanowił kontynuować badania nad potencjałem rózu bengalskiego w kontekście możliwości zwiększenia skuteczności efektu terapeutycznego. Ponadto zaprezentował efekty terapii z wykorzystaniem drugiego fotouczulacza w postaci soli disodowej protoporfiryny IX. Analizę efektów PDT oceniono w badaniu histopatologicznym oraz analizując różnice czasów relaksacji tkanek w badaniu klinicznym rezonansem magnetycznym. Badanie z wykorzystaniem MRI ujawniło różnice w czasach relaksacji przed i po działaniu fotodynamicznym, gdyż tkanki leczone PDT miały niższe wartości czasów relaksacji w porównaniu z wartościami tkanek przed leczeniem.

W związku z powyższym zakres prac badawczych, jakie wykonał Doktorant i opisał w swojej rozprawie, spełnia zwyczajowe wymagania stawiane wobec kandydatów do stopnia naukowego doktora. Lek. Michał Osuchowski potwierdził, iż pod wpływem terapii fotodynamicznej *in vitro* dochodzi do znacznego i nieodwracalnego uszkodzenia komórek nowotworowych raka prostaty, a działanie toksyczne jest ograniczone wyłącznie do obszaru, gdzie fotouczulacz zostaje aktywowany światłem. Uszkodzenie to można jednak wiarygodnie ocenić za pomocą badania histopatologicznego tkanki po zastosowanym leczeniu. Niemniej jednak, w przypadku niezadowalającego efektu możliwe jest zastosowanie innych fotouczulaczy lub zmodyfikować stężenie tego samego fotouczulacza.

---

Ponadto efekt terapii PDT można wiarygodnie ocenić za pomocą czasów relaksacji rezonansu magnetycznego.

Wybór rózu bengalskiego oraz soli disodowej protoporfiryny IX jako fotouczulacza jest poprawny, jednak biorąc pod uwagę zalety stosowania nanomateriałów modyfikowanych łańcuchami polimerowymi do rozważań Doktoranta pozostawiam możliwość zmodyfikowania stosowanych materiałów, np. z wykorzystaniem na poszczególnych etapach procesu technik kontrolowanej polimeryzacji rodnikowej bez udziału kompleksu katalitycznego. Tego typu rozwiązanie umożliwiłoby przygotowanie nanomateriałów o ściśle określonej i zdefiniowanej strukturze oraz architekturze, czyniąc tym samym produkt końcowy znacznie bardziej atrakcyjnym, chociażby z punktu widzenia opisywanych w dysertacji zastosowań biomedycznych.

Wymienione uwagi nie mają wpływu na moją ocenę całości pracy. Podsumowując stwierdzam, iż Kandydat posiada dużą wiedzę teoretyczną i praktyczną z zakresu metodologii klinicznego rezonansu magnetycznego oraz metody fotodynamicznej, a także posiada bardzo dobre przygotowanie do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i rozwiązywania problemów praktycznych.

### *Sposób zredagowania rozprawy*

Przedstawiona do oceny praca doktorska została zredagowana starannie, znalazłem jedynie bardzo nieliczne uchybienia językowe i interpunkcyjne. Układ pracy, jak już wspomniałem, jest typowy dla rozpraw doktorskich.

### *Uwagi krytyczne i pytania*

W związku z ocenianą dysertacją nasuwają mi się następujące uwagi i pytania do Doktoranta:





- O ile dobór materiałów źródłowych nie budzi zastrzeżeń, to pewne uwagi nasuwa ich aktualność. Opisując zagadnienia dotyczące działania fotouczulaczy w terapii PDT, czy chociażby konkretnych rodzajów wspomnianych fotouczulaczy warto zacytować w pierwszej kolejności pozycje kluczowe z historycznego punktu widzenia, przechodząc płynnie do najnowszych doniesień literaturowych w danej dziedzinie.
- Pewien niedosyt pozostawia brak gruntownego przeanalizowania mechanizmów poszczególnych reakcji z udziałem stosowanych w pracy fotouczulaczy. W tym miejscu pomocny byłby szczegółowy opis mechanizmów reakcji składowych, wraz ze wskazaniem potencjalnych reakcji ubocznych.
- W kontekście powyższej uwagi warto również wyjaśnić wybór rózu bengalskiego oraz soli disodowej protoporfiryny IX jako fotouczulacza.
- W pracy doktorskiej wskazano kierunki zastosowań zarówno rózu bengalskiego, jak i soli disodowej protoporfiryny IX jako fotouczulaczy w terapii PDT, które z nich Doktorant uważa za potencjalnie najbardziej obiecujące?

Wszystkie te dostrzeżone przeze mnie drobne błędy i niedopatrzenia, a także moje uwagi dyskusyjne nie mają wpływu na ocenę całości pracy. Uważam, iż ich wyeliminowanie lub ewentualne wyjaśnienie może być przydatne w przygotowaniu kolejnych artykułów naukowych obejmujących – niewątpliwie interesujący zarówno z naukowego jak i praktycznego punktu widzenia – obszar tematyczny pracy.

## Podsumowanie

Stwierdzam, że opiniowany cykl publikacji stanowiący wraz z autoreferatem dysertację doktorską lek. Michała Osuchowskiego zawiera szereg elementów nowości naukowej i stanowi istotny wkład w rozwój dziedziny nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Uważam, że recenzowana praca doktorska stanowi opis zwięzłego

osiągnięcia naukowego a zatem spełnia wymogi formalne, zawarte w obowiązujących przepisach ustawowych. W publikacjach opisane zostały nowe i warte kontynuacji interesujące kierunki badań. Doktorant zrealizował założone cele pracy, wykonał przy tym szeroki zakres analiz stosując i modyfikując znane techniki badawcze. Zarówno zaplanowanie eksperymentów, ich realizacja, jak i forma przedstawienia wyników wraz z ich analizą, świadczą dojrzałości naukowej Kandydata oraz wskazują na przygotowanie do samodzielnego prowadzenia prac naukowych.

W związku z powyższym uważam, że przedłożona mi do oceny rozprawa spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity w Dz. U. 2017 poz. 1789) oraz Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19.01.2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2018, poz.261) zatem formułuję wniosek do Rady Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o przyjęcie pracy doktorskiej i dopuszczenie Pana lek. Michała Osuchowskiego do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Mając na uwadze szeroki zakres wykonanych badań, wagę otrzymanych wyników scharakteryzowanych w cyklu artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych o łącznym współczynniku  $IF_{5Y}$  równym blisko 14, a także ich przedstawienie podczas kilku konferencji – nawiązując do uchwały Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego w sprawie regulaminu wyróżniania prac doktorskich – wnioskuję o wyróżnienie ocenianej rozprawy doktorskiej zgodnie z kryteriami wyróżniania prac doktorskich zawartymi w przytoczonej uchwale.

*Paweł Chmielarz*

Prof. dr hab. inż. Paweł Chmielarz