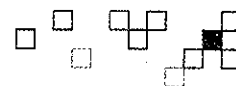


**Opinia o rozprawie doktorskiej mgr Justyny Mildner zatytułowanej:**  
*„Badanie wpływu wybranych leków znieczulających miejscowo na monowarstwy lipidowe modelujące błony komórek nerwowych, mitochondriów i erytrocytów”*

Jednym z zadań, jakie stoi przed współczesną medycyną jest eliminacja bólu. Analgeza, to działanie medyczne mające na celu zniesienie bólu zarówno u osób w pełni świadomych jak i nieprzytomnych. Z pojęciem analgezji wiąże się anestezja, której celem jest zablokowanie odczuwania bólu występującego zwłaszcza w wyniku ingerencji chirurgicznej, np. operacji lub innych zabiegów medycznych. Uśmierzenie bólu można osiągnąć przez działanie farmakologiczne na ośrodkowy układ nerwowy (analgetyki) oraz na zakończenia czuciowe lub nerwy z wykorzystaniem leków znieczulających miejscowo (LZM). Istotą znieczulenia miejscowego jest działanie substancji w miejscu jej podania, z minimalnym przenikaniem leku do krążenia systemowego, co redukuje jej skutki ogólnoustrojowe. Początkowo do znieczulania stosowano eter, podtlenek azotu, chloroform i chlorek etylenu. Przełom w leczeniu bólu nastąpił w drugiej połowie XIX wieku, kiedy do analgezji miejscowej wykorzystano naturalną oraz czystą, syntetyczną kokainę, a następnie mniej toksyczne syntetyczne aminoestry. Opracowanie nowych metod syntezy związków zawierających w swojej budowie ugrupowanie amidowe pozwoliło na dynamiczny rozwój leków znieczulających o wydłużonym czasie działania. W związku z tym konieczne jest przeprowadzanie wielu systematycznych badań, nie tylko czynników farmakologicznych wpływających na aktywność leków znieczulających ( $pK_a$ , rozpuszczalność w tłuszczach i powinowactwo do białek osocza), ale również poznanie właściwości fizykochemicznych anestetyków, które decydują o ich stabilności, sile i czasie działania oraz właściwościach toksycznych.

Od 1957 roku, kiedy Bo af Ekenstam zsyntetyzował bupiwakainę i mepiwakainę, obserwuje się stały wzrost zainteresowania anestetykami, o czym świadczy wzrost ilości opublikowanych prac naukowych z 79 (1957 rok) do 790 (1990 rok) i 1048 (2016 rok). Tematyka pracy doktorskiej mgr Justyny Mildner zatytułowana *„Badanie wpływu wybranych leków znieczulających miejscowo na monowarstwy lipidowe modelujące błony komórek nerwowych, mitochondriów i erytrocytów”*, zrealizowanej w Zakładzie Chemii Ogólnej, Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, dobrze wpisuje się w zasygnalizowany obszar badań i integralnie wiąże się z tematyką badawczą uprawianą przez prof. dr hab. Patrycję Dynarowicz-Łątkę.

Celem pracy doktorskiej było zbadanie wpływu wybranych anestetyków: lidokainy (LiC), mepiwakainy (MC), prylokainy (PriC) i ropiwakainy (RC) na właściwości fizykochemiczne układów biomimetycznych w postaci monowarstw lipidowych utworzonych z pojedynczych lipidów błonowych: DPPC, POPC, DOPC, POPE,



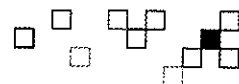


sfingomieliny (SM), kardiolipiny (LC) i cholesterolu oraz ich mieszanin dwuskładnikowych fosfolipid/cholesterol. Badania zostały rozszerzone na układy trójskładnikowe imitujące błony różnego rodzaju komórek, tj. nerwowych, mitochondriów i erytrocytów. Wybór anestetyków i modelowych układów błon komórkowych nie był przypadkowy. Na podstawie bazy SCOPUS z dn. 13.07.2017. można odnotować następujące dane dla związków należących do grupy amidów, które wykorzystywała doktorantka w swoich badaniach: *lidocaine* – 69293 rekordów, *prilocaine* – 4887, *mepivacaine* – 6171, *ropivacaine* – 8112, natomiast *anaesthetics* – 43025 wzmianek. Te wartości liczbowe świadczą o dużym zainteresowaniu badaczy na całym świecie wspomnianymi związkami w interdyscyplinarnym obszarze naukowym z pogranicza medycyny, farmacji i chemii. W te aspekty dobrze wpisuje się opiniowana rozprawa doktorska. Autorka na podstawie wnikliwego przestudiowania tematycznej literatury zaproponowała badania zmierzające do wyjaśnienia wpływu wspomnianych leków znieczulających na wysokouporządkowane struktury lipidów w modelowych układach na granicy faz i modyfikacji ich właściwości przez zmianę oddziaływań pomiędzy składnikami oraz określenie umiejscowienia leków w błonie komórkowej.

W tym celu Doktorantka przeprowadziła wiele dobrze zaplanowanych, usystematyzowanych, precyzyjnych i udokumentowanych badań doświadczalnych z wykorzystaniem między innymi:

- wanny Langmuira do zdefiniowania parametrów błony (ciśnienie, stan fizyczny, rozmiary cząsteczek) i określenia oddziaływań pomiędzy składnikami (organizacja i mieszalność składników) na granicy faz roztwór leku-powietrze;
- mikroskopii kąta Brewstera (BAM) do bezpośredniej obserwacji struktury monowarstw na subfazie roztworów poszczególnych leków: wizualizacji współistnienia faz, rozdziału fazowego, obecności domen i agregatów, nakładania warstw;
- odbiciowo-absorbpcyjnej spektroskopii w podczerwieni z modulacją polaryzacji (PM-IRRAS) w celu określenia zlokalizowania LZM w monowarstwach na podstawie porównania intensywności pasm przypisanych częstościom drgań odpowiadających charakterystycznym grupom w cząsteczkach fosfolipidów.

Oceniana rozprawa mgr Justyny Mildner obejmuje 167 stron maszynopisu w układzie typowym dla dysertacji doktorskich. Po wykazie skrótów i symboli Autorka przedstawiła bardzo krótki wstęp z pytaniami, na które chciała odpowiedzieć analizując modelowe układy błon biologicznych w obecności wodnych roztworów anestetyków oraz zdefiniowała szczegółowy cel pracy i jej zakres. O teoretycznym przygotowaniu mgr Justyny Mildner do zaplanowanych badań może świadczyć część literaturowa pracy doktorskiej przedstawiona na 48 stronach maszynopisu, co stanowi 34% głównej części dysertacji i potwierdza, że zostały właściwie zachowane proporcje pomiędzy poszczególnymi częściami. W części literaturowej rozprawy Autorka dokonała interesującego przeglądu literatury rozpoczynając od rysu historycznego dotyczącego wprowadzenia leków znieczulających miejscowo do zastosowań klinicznych, następnie omówiła ich charakterystykę, podział i zastosowanie. Przybliżyła również mechanizm działania LZM i oddziaływania z błonami lipidowymi. Szczególną uwagę zwraca

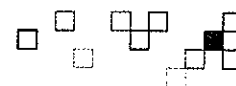


podrozdział II.2, gdzie mgr Justyna Mildner wykazała dużą znajomość zagadnień poświęconych monowarstwom Langmuira (rozwój badań dotyczących monowarstw Langmuira, charakterystyka monowarstw jedno – i wieloskładnikowych, wpływ różnych parametrów na przebieg izoterm  $\pi$ -A) oraz ich wykorzystania do modelowania błon komórkowych. Do podkreślenia skomplikowanego składu błony naturalnej w kolejnym podrozdziale została omówiona jej budowa i funkcje, ze szczególnym uwzględnieniem błon komórek nerwowych, erytrocytów i mitochondriów. Badania dynamiki i struktury naturalnych błon biologicznych są trudne ze względu na ich naturę i problemy z ich izolacją bez naruszenia struktury. W chwili obecnej jest wiele modelowych układów o właściwościach błon biologicznych. Doktorantka je przedstawiła i uwypukliła zalety dwuwymiarowych filmów Langmuira na powierzchni cieczy w badaniach oddziaływań błon komórkowych z cząsteczkami bioaktywnymi w celu lepszego zrozumienia natury reakcji przebiegających w żywych organizmach, na powierzchni membran komórkowych oraz poszukiwania selektywnych środków leczniczych i dozowania ich w kontrolowany sposób. Część literaturową kończy przegląd wybranych metod stosowanych do badania właściwości fizykochemicznych monowarstw Langmuira oraz obrazowania ich struktury.

Przy redakcji części literaturowej Doktorantka skorzystała z 255 odnośników, co świadczy o jej dobrym teoretycznym i merytorycznym przygotowaniu do wielowątkowych badań doświadczalnych oraz dyskusji otrzymanych wyników. Autorka odniosła się do źródeł od 1860 do 2015 roku. Około 6% cytowań stanowią odnośniki z przełomu IXX i XX, 68% z drugiej połowy XX wieku, a pozostałe 26% to najnowsze publikacje, które ukazały się po 2000 roku. Z przytoczonych danych wynika, że mgr Justyna Mildner przestudiowała nie tylko ostatnie doniesienia, ale również publikacje z okresu dynamicznego wzrostu zainteresowania zarówno anestetykami jak i powrotem do badań monowarstw Langmuira w latach dziewięćdziesiątych XX wieku. Spis cytowanych źródeł przygotowany jest starannie z pełnymi danymi bibliograficznymi, co wymagało zwiększonego nakładu pracy, ale bardzo ułatwia śledzenie zgodności cytowanego odnośnika z omawianymi zagadnieniami. Uważam, że informacje zawarte w części literaturowej są ciekawe, dobrze opracowane i umiejętnie przybliżają problematykę rozprawy doktorskiej, stanowiąc jednocześnie dobre wprowadzenie do części doświadczalnej.

Przy ocenie tej części pracy chciałabym zwrócić uwagę pewne nieścisłości. W pozycji [121] chodzi z pewnością o pracę Harkinsa z 1962 a nie z 1652 roku. W niektórych miejscach Autorka używa potocznych zwrotów, np. „wraz ze wzrostem mocy leku” (str. 24), „badano różnice w mocy oddziaływań enancjomerów” (str. 26), „kontrola architektury i uporządkowanie na poziomie molekularnym”, „każde królestwo, gatunek, tkanka, komórka czy organellum posiada charakterystyczny skład lipidowy błony komórkowej” (str. 49).

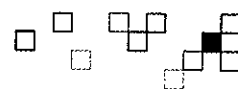
Wymienione powyżej niedoskonałości w części literaturowej nie zmieniają faktu, że praca doktorska zawiera obszerny, dobrze zaplanowany i interesujący materiał doświadczalny przedstawiony na 93 stronach w kolejnych 4 rozdziałach z licznymi podrozdziałami, które obejmują materiały i procedury badawcze, omówienie i dyskusję wyników, wnioski, streszczenie i abstrakt oraz spis cytowanej literatury. Na



podkreślenie zasługuje przejrzysta szata graficzna. Doktorantka wyniki swoich badań zaprezentowała na 143 rysunkach obejmujących struktury związków, zdjęcia aparatury wykorzystanej do badań, izoterm  $\pi$ -A, zależności  $C_s^{-1}$ - $\pi$ , widma PM-IRRAS, obrazy BAM, zależności średniej powierzchni cząsteczkowej i nadmiarowej entalpii swobodnej w funkcji ułamka molowego cholesterolu lub sfingomieliny ( $A_{12} = f(x)$ ,  $\Delta G^{exc} = f(x)$ ) monowarstw wieloskładnikowych, histogramów przedstawiających różnice w wartościach  $A_o$ ,  $C_{s\max}^{-1}$  dla monowarstw lipidów błonowych na roztworach leków, wpływ anestetyków na maksymalną wartość  $\Delta C_{s\max}^{-1}$  oraz  $\Delta G_{woda}^{exc} - \Delta G_{lek}^{exc}$  w funkcji ułamka molowego cholesterolu ( $\Delta C_{s\max}^{-1} = f(x)$ ) w warstwach wieloskładnikowych. Jest to imponująca ilość danych świadcząca o bogatym materiale doświadczalnym.

Podstawę pracy doktorskiej stanowią badania dotyczące właściwości fizykochemicznych modelowych jedno- i wieloskładnikowych monowarstw lipidowych na powierzchni wody i wodnych roztworów LZM. W pierwszej kolejności koncentrują się na systematycznych badaniach monowarstw jednoskładnikowych z wykorzystaniem tej samej techniki ich modelowania i w tych samych warunkach eksperymentalnych. Fosfolipidy stosowane do badań zostały dobrane w taki sposób, aby można było analizować wpływ tylko jednego elementu strukturalnego na efekt wywołany obecnością LZM. W związku z tym Autorka mogła porównać właściwości układów zawierających fosfolipidy o takiej samej części polarnej, ale o różnej budowie łańcuchów węglowodorowych (DPPC, POPC, DOPC) oraz o różnej budowie części hydrofilowej (POPC, POPE) i takiej samej hydrofilowej. Ponadto zbadany został cholesterol, będący elementem strukturalnym błony biologicznej, niezbędnym do jej prawidłowego funkcjonowania, sfingomielina występująca w większych ilościach w mózgu i tkance nerwowej oraz kardiolipina, która w komórkach ssaków występuje niemal wyłącznie w wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Kardiolipina jest unikalnym fosfolipidem, ponieważ posiada cztery łańcuchy acylowe, co odróżnia ją od typowego fosfolipidu posiadającego dwa takie łańcuchy.

Do charakterystyki wspomnianych układów Doktorantka wykonała pomiary izoterm  $\pi$ -A w wannie Langmuira na subfazie wodnej i wodnych roztworach wszystkich anestetyków o stężeniu  $10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup> w temperaturze 20°C. W celu wizualizacji monowarstw w czasie ich kompresji wykorzystwała mikroskop kąta Brewstera, a w pracy zamieściła obrazy monowarstw przy różnych ciśnieniach wszystkich lipidów na wodzie i wodnych roztworach dla dwóch LZM: chlorowodorku prylokainy i ropiwakainy. Wykonując widma monowarstw metodą spektroskopii PM-IRRAS ograniczyła się natomiast tylko do czterech fosfolipidów (DPPC, POPC, POPE i CL) na roztworze wybranego leku – ropiwakainy w odniesieniu do układu fosfolipid/woda. Jak pisze Autorka na str. 75 taki wybór podyktowany był uzyskaniem podobnych widm dla innych wybranych przez nią leków. W dalszych badaniach dotyczących mieszanych monowarstw Doktorantka zrezygnowała z ropiwakainy ze względu na jej podobieństwo strukturalne do mepiwakainy oraz znaczny koszt RC. W związku z tym nasuwa się pytanie czy dla spójności nie należało w pracy przedstawić widm PM-IRRAS badanych fosfolipidów na roztworze chlorowodorku mepiwakainy i obrazów BAM monowarstw na powierzchni roztworów tego anestetyku?



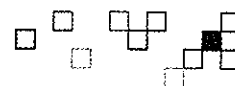
Kolejne badania dotyczyły monowarstw dwuskładnikowych zawierających fosfolipidy i cholesterol o różnej zawartości sterolu w filmach. Takie modelowe układy są dość często badane, dlatego Autorka chciała odpowiedzieć na pytanie, w jaki sposób obecność cholesterolu w błonie wpływa na działanie leków znieczulających. W tym celu Doktorantka wykonała pomiary izoterm  $\pi$ -A monowarstw fosfolipid (DPPC, POPC, DOPC, POPE, SM)/Chol w obecności trzech LZM (lidokainy, prylokainy i mepiwakainy) a następnie termodynamiczną analizę oddziaływań cząsteczek w badanych filmach powierzchniowych. Analogiczne badania zostały przeprowadzone dla trójskładnikowych monowarstw (POPC/SM/Chol i POPC/CL/Chol), których skład ilościowy został tak dobrany, aby imitowały one błony komórek nerwowych, erytrocytów i mitochondriów.

Wyniki badań oddziaływań LZM ze wspomnianymi monowarstwami, które obejmowały pomiary i wykonane na ich podstawie obliczenia modułów ściśliwości, średniej powierzchni cząsteczkowej  $A_{12}$ ,  $A_{123}$  oraz nadmiarowej entalpii swobodnej procesu mieszania składników  $\Delta G^{\text{exc}}$  zostały zaprezentowane w podrozdziale III.2., natomiast dyskusja dotycząca wpływu leków znieczulających miejscowo na organizację cząsteczkową lipidów we wszystkich rodzajach badanych układów znajduje się w rozdziale IV.

Do udokumentowania poprawności uzyskanych wyników i ich merytorycznej dyskusji Doktorantka posiłkowała się tematyczną literaturą, przez co spis bibliografii powiększył się o dodatkowe 32 pozycje i końcowym efekcie obejmuje 287 odnośników.

W moim przekonaniu Autorka zrealizowała zaplanowane do cele badawcze, które wymagały przeprowadzenia dużej ilości dobrze przemyślanych, systematycznych i precyzyjnych badań wymagających pracowitości i staranności. Uzyskane wyniki i ich merytoryczna dyskusja w odniesieniu do tematycznej literatury dostarczyły wiele ważnych informacji i pozwoliły na sformułowanie szeregu ciekawych stwierdzeń i istotnych wniosków dotyczących wpływu LZM zarówno na monowarstwy utworzone z pojedynczych lipidów jak i monowarstw wieloskładnikowych.

1. Wykazanie, że badane leki znieczulające miejscowo obecne w roztworach subfazy wbudowując się w polarną część monowarstwy wpływają na właściwości fizykochemiczne wszystkich badanych monowarstw utworzonych z lipidów błonowych.
2. Wykazanie na podstawie izoterm  $\pi$ -A i termodynamicznej analizy oddziaływań międzycząsteczkowych w jednoskładnikowych monowarstwach lipidowych, że wbudowywanie się w nie leków powoduje ekspansję i zmniejszenie kondensacji monowarstw, co z kolei może mieć wpływ na zmianę konformacji białka stanowiącego kanał jonowy w naturalnej błonie komórkowej.
3. Wpływ LZM na właściwości monowarstw jednoskładnikowych zależy od rodzaju i budowy lipidu.
  - Wbudowywanie się leków w polarną część monowarstw DPPC, POPC i DOPC w największym stopniu wpływa na ściśliwość i upłynnienie najbardziej skondensowanej monowarstwy DPPC.
  - Podobny efekt zaobserwowano porównując monowarstwy POPC i POPE – większe upłynnienie bardziej skondensowanej monowarstwy POPE.

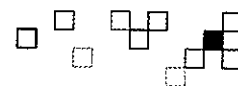


- Wzrost efektu upłynnienia występuje również w monowarstwie dwufosfatydyloglicerolu – kardiolipiny, która oddziałuje elektrostatycznie z dwoma jonami leków, co wpływa również na ich toksyczność.
  - W przypadku najbardziej skondensowanej monowarstwy cholesterolu efekt upłynnienia jest największy w porównaniu do monowarstw o niższej kondensacji (POPC, SM, CL).
4. Zwiększenie płynności monowarstw dwuskładnikowych fosfolipid/cholesterol pod wpływem LZM zależy od zawartości sterolu i od skondensowania monowarstwy – większy wpływ na układy POPC/Chol, DOPC/Chol i SM/Chol niż DPPC/Chol.
  5. Wprowadzenie do subfazy badanych LZM spowodowało zmniejszenie kondensacji monowarstw trójskładnikowych o składzie odpowiadającym stosunkowi lipidów w błonach komórek nerwowych i erytrocytów, przy czym wpływ leków na upłynnienie monowarstw komórek nerwowych jest mniejszy niż monowarstw imitujących błonę erytrocytów.
  6. Na podstawie analizy nadmiarowej entalpii swobodnej procesu mieszania  $\Delta G^{exc}$  stwierdzono destabilizujący wpływ LZM na modelową monowarstwę komórek erytrocytów oraz stabilizujący na monowarstwę imitującą błony komórek nerwowych.
  7. W przypadku modelowych monowarstw komórek mitochondrialnych badane leki w niewielkim stopniu wpływają na płynność błony, natomiast powodują wzrost oddziaływań międzycząsteczkowych i jej stabilność termodynamiczną.

Są to wartościowe uwagi i jak wnioskuję Doktorantka wzrost płynności błon komórkowych wpływa niekorzystnie na funkcjonowanie komórek, co z kolei ma odzwierciedlenie w skutkach ubocznych działania LZM.

Z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na pewne niedoskonałości występujące w występujące w pracy.

- W celu pracy Autorka nadmienia, że badała wpływ LZM na modelowe błony lipidowe w postaci jednoskładnikowych monowarstw oraz układów dwuskładnikowych fosfolipid/cholesterol i Chol/SM o różnym ułamku sterolu. Z takiego opisu można wnioskować, że sfingomielina nie należy do fosfolipidów skoro układ ten został zbadany ponadto. Z kolei na str. 45 pisze, że „lipidy błonowe dzielą się na sterole, fosfolipidy (w tym fosfoglicerydy i sfingomieliny).
- W części eksperymentalnej przy prezentacji wyników w podpisach pod rysunkami, gdzie znajdują się obrazy monowarstw uzyskane z wysoką rozdzielczością za pomocą BAM, stosuje termin zdjęcie, co moim zdaniem nie jest poprawne. Zdjęcie to obraz zapisany dowolną techniką fotograficzną, natomiast mikroskop kąta Brewstera stosowany do wizualizacji monowarstw tworzy obraz powierzchni poprzez rejestrację zmian współczynnika załamania światła od powierzchni wody, w obecności cząsteczek związków amfifilowych.
- Wszystkie pomiary Doktorantka wykonała przy jednym stężeniu leków znieczulających ( $10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup>) oraz w temperaturze 20°C. Nigdzie w pracy nie znalazłam wartości pH wody i roztworów leków tworzących subfazę dla modelowych monowarstw. W części literaturowej Autorka wspomina, że leki znieczulające



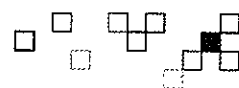
miejscowo są słabymi zasadami o wartościach  $pK_a$  mieszczących się w przedziale od 7,6 do 9. W związku z tym istotne jest pH środowiska, ponieważ decyduje ono o równowadze pomiędzy formą obojętną i zjonizowaną leku. W środowisku kwasowych związki znieczulające miejscowo wykazują słabsze działanie, ponieważ równowaga przesunięta jest w kierunku formy obdarzonej ładunkiem, co obniża zdolność jej penetracji przez błonę komórkową.

- Moim zdaniem, aby w pełni wnioskować o wpływie badanych leków znieczulających na oddziaływania międzycząsteczkowe na poziomie membranowym należałoby dodatkowo przeprowadzić badania uzupełniające w temperaturze fizjologicznej, tym bardziej, że każdy z badanych lipidów ma inną temperaturę przejścia fazowego i wpływ temperatury ma istotne znaczenie na ich stan fizyczny oraz wzajemne oddziaływania.

Podsumowując stwierdzam, że praca prezentuje dobry poziom naukowy. Pod kątem językowym, edytorskim i merytorycznym napisana jest poprawnie. W tak obszernej pracy trudno jest uniknąć usterek interpunkcyjnych, stylistycznych i językowych, np. używając określeń anglojęzycznych, np. molekula, wertrykalnie, wertrykalna orientacja zwłaszcza, że mają one polskie odpowiedniki. Przy formatowaniu pracy Autorka nie zwróciła uwagi, że rys. 84 znajduje się na str. 107, natomiast podpis na drugiej stronie (str. 108). W przypadku rysunków 89 i 90 podpisy zostały rozdzielone i znajdują się na str. 109 i 110. W języku angielskim rzeczowniki tabela 1 i rysunek 1 w tekście pisane są z dużej litery, natomiast zgodnie z regułami języka polskiego powinno się je pisać z małej litery. (J. Harasimczuk, J. Ciecuch, Podstawowe standardy edytorskie naukowych tekstów psychologicznych w języku polskim na podstawie reguł APA. Wydawnictwo Liberi Libri, 2012.).

W moim odczuciu prezentacja wyników badań (strony od 68 do 126) jest trochę schematyczna. W tej części maszynopisu naliczyłam powtórzenie zwrotów „na rysunku ... przedstawiono” lub „rysunki ... przedstawiają” ok. 35 razy. Zdaję sobie sprawę, że zaprezentowanie wyników na 99 rysunkach (rys. 23–122) jest trudne bez powtórzenia zwrotów, ale można użyć również nieco innych sformułowań.

Przedstawione w recenzji uwagi i komentarze w niczym nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej mgr Justyny Mildner, która wnosi istotne i oryginalne treści dotyczące rozwiązania tezy postawionej w tytule. Mogę jednocześnie stwierdzić, że Doktorantka posiada ugruntowaną wiedzę i umiejętności w badaniu układów imitujących naturalne membrany na poziomie cząsteczkowym z wykorzystaniem nowoczesnej aparatury. W Jej dorobku naukowym znajdują się dwie prace. Jedna z nich prezentuje wyniki badań przedstawione w recenzowanej pracy doktorskiej [P. Dynarowicz-Łątka, J. Mildner, The application of Langmuir monolayers in studying the behaviour of local anaesthetics in membrane-mimicking environment. X Ogólnopolska Konferencja Doktorantów: Na pograniczu chemii i biologii; 26–29.05.2012. Ustroń, publikacja pokonferencyjna, Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza, 29 (2012) 267–277]. Szkoda, że Doktorantka mając tak obszerny materiał doświadczalny nie pokusiła się o kolejne publikacje, co z pewnością



przyczyniłoby się upowszechnienia ciekawych badań i poszerzenia stanu wiedzy nad mechanizmem działania leków znieczulenia miejscowego.

Uważam, że recenzowana praca spełnia wymagania odnośnie prac doktorskich określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65/2003 poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnoszę o dopuszczenie mgr Justyny Mildner do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, 26.07.2017.



Prof. dr hab. Lucyna Hołysz

