



Poznań, 10 sierpnia 2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Drabczyk
pt.

„Nanocząstki magnetyczne jako nośniki leków przeciwnowotworowych”

(opracowana na zlecenie Dziekana Wydziału Inżynierii i Technologii Chemicznej
Politechniki Krakowskiej)

Informacje ogólne

Promotorem powyższej rozprawy doktorskiej jest dr hab. inż. Bożena Tyliszczak, prof. PK a promotorem pomocniczym dr n. biol. lek. med. Magdalena Kędzierska.

Recenzowana rozprawa doktorska zrealizowana jest w klasycznej formie rozprawy doktorskiej, w postaci monografii. Obejmuje ona łącznie 180 stron i pogrupowana jest na 13 rozdziałów, z podziałem na dwie zasadnicze części: część literaturową opisującą tematykę badawczą i techniki eksperymentalne oraz część doświadczaną (eksperymentalną) związaną z badaniami materiałów będących głównym elementem przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej. Całość zakończona jest 219 punktowym spisem literatury oraz opisem osiągnięć naukowych doktorantki w postaci publikacji, doniesień konferencyjnych, uzyskanych stypendiów i wyróżnień związanych z prowadzoną pracą naukową. Rozprawa napisana w tej formie zawiera 15 tabel i 96 rysunków.

Autorka rozprawy doktorskiej podjęła się przeprowadzenia badań dotyczących aplikacji nośników leków chemioterapeutycznych. Jedne z nich to metodologia techniki chemioterapii stosowanej na przykładzie leków cytostatycznych przyłączonych do nowo opracowanych nośników dla leczenia nowotworów jajnika. Druga możliwość aplikacyjna nośnika cytostatyków na bazie nanocząstek magnetycznych dotyczy jego wykorzystania w leczeniu chemioterapeutycznym guzów nieoperacyjnych. Celem pracy było opracowanie metodologii otrzymywania stabilnych nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza Fe_3O_4 o sfunkcjonalizowanej powierzchni mogących znaleźć zastosowanie w celowanej terapii antynowotworowej. Otrzymane nanocząstki muszą charakteryzować się odpowiednimi właściwościami fizyko-chemicznymi, jak również spełniać określone parametry pod względem biomedycznym. Temat rozprawy ma duże znaczenie zarówno w aspekcie społecznym oraz naukowym. Stąd tematyka pracy wydaje się być ogromnie ciekawa, będąca wyzwaniem na oczekiwania skierowane w kierunku badaczy na znalezienie skutecznych i bezpiecznych metod walki z chorobami nowotworowymi.

SEKRETARIAT WIITCH

Wpłynęło dnia.....16.08.2022.....

L.Dz.1171/2022.....

Motorem tego typu badań, zawartych w recenzowanej rozprawie, jest niewątpliwie ciągła potrzeba walki z chorobami nowotworowymi i poszukiwaniem między innymi nowej klasy materiałów, które mogą zapewnić rolę nośnika dostarczającego cytostatyki wprost do komórek nowotworowych.

Ocena rozprawy doktorskiej

Praca doktorska przedstawiona do recenzji zasadniczo podzielona jest na dwie części. Pierwsza z nich, nazwana *Część literaturowa*, odnosi się do opisu i stanu wiedzy z zakresu prowadzonych prac badawczych oraz przeglądu literatury. Autorka opisuje zagadnienia teoretyczne z zakresu chorób nowotworowych, metod leczenia chorób nowotworowych, nanomateriałów (ich właściwości, definicji oraz klasyfikacji, nanocząstek magnetycznych (ich otrzymywania, modyfikacji powierzchniowej oraz ich zastosowania w omawianej tematyce pracy doktorskiej) i rozdziału podsumowującego część literaturową.

Ta część jest bardzo dobrze skonstruowana, zarówno pod względem opisu podstawowych problemów badawczych, ich teoretycznej analizy, jak również dobrze udokumentowana literaturowo obecnym stanem wiedzy. Świadczy to o wnikliwym zgłębianiu tematu przez Doktorantkę i posiłkowanie się najnowszymi wynikami badawczymi. W mojej opinii ma też ważny aspekt dydaktyczny i może służyć jako materiał przedstawiający w skompensowanej formie zarówno zagadnienia medyczne jak i zastosowanie nanocząstek do terapii celowanej w chorobach nowotworowych.

Druga część, nazwana *Część badawcza*, odnosi się bezpośrednio do wykonanych przez doktorantkę prac badawczych, polegających na syntezie nanocząstek magnetycznych Fe_3O_4 , ich modyfikację poprzez powlekanie nanosrebrem i nanosrebrą, analizie biologicznej i funkcjonalizacją otrzymanych nanocząstek magnetycznych za pomocą poli(glikolu etylenowego) oraz otrzymywania nanocząstek magnetycznych połączonych z lekiem cytostatycznym. W części tej przeprowadzono również charakteryzację otrzymanych nanocząstek magnetycznych z wykorzystaniem technik eksperymentalnych jak: dynamiczne rozpraszanie światła (DLS), spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera (FT-IR), spektroskopia UV-Vis, dyfrakcja rentgenowska (XRD), skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) oraz transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM). Część badawczą zamyka rozdział poświęcony omówieniu wyników badań i ich interpretacji, wnioski końcowe i podsumowanie.

Uważam, że powyższa część jest również bardzo dobrze skonstruowana. Autorka bardzo precyzyjnie opisuje technikę otrzymywania nanocząstek i ich powierzchniową modyfikację. Na uwagę zasługuje kompleksowy zestaw badań eksperymentalnych służących do charakteryzacji otrzymanych materiałów. Badania są dobrze zaplanowane a ich wybór pozwala na kompleksową charakteryzację nanocząstek magnetycznych i poznanie ich właściwości fizyko-chemicznych zarówno w ujęciu jakościowym, jak i ilościowym. Pozwoliło na to zastosowanie metod spektroskopowych (FT-IR, UV-Vis) dające dane odnośnie struktury, właściwości elektronowych oraz występujących wiązań chemicznych oraz mikroskopowych (SEM, TEM) odnoszących się do morfologii powierzchni i ich obrazowania w skali mikro i nano. Bardzo wysoko oceniam warsztat eksperymentalny Autorki i tak kompleksowe zaplanowanie badań analizowanych materiałów.

Praca napisana jest bardzo przejrzysto i starannie, metodologia badań jest poprawna a prezentacja wyników i ich interpretacja prezentuje dojrzały warsztat naukowy Autorki rozprawy doktorskiej. Na uwagę zasługuje fakt, że charakter pracy w dużej mierze ma charakter interdyscyplinarny, a Autorka pracy bardzo poprawnie i swobodnie porusza się w tematyce medycznej jak i tej z zakresu chemii i inżynierii materiałowej. Dowodem tego są same wyniki eksperymentalne z zakresu charakteryzacji właściwości fizyko-chemicznych badanych nanocząstek magnetycznych, jak również przedstawione w pracy wyniki związane z analizą cytotoksyczności polegające na analizie właściwości przeciwdrobnoustrojowych, czy też wpływu otrzymanych zawiesin na proces gojenia się rany oraz analizy aktywności prozapalnej zawiesin nanocząstek. Badania te stanowią w pracy dość znaczący element i są istotnym dodatkiem do głównego celu związanego z wytworzeniem nanocząstek magnetycznych, ich modyfikacji powierzchniowej a tym samym zmianie ich właściwości.

W trakcie czytania i analizowania rozprawy doktorskiej pojawiły się pewne pytania i niejasności, które wymagają wyjaśnienia i doprecyzowania dla jaśniejszego przekazu prezentowanej pracy doktorskiej.

Autorka w swojej rozprawie opisuje metody otrzymywania nanocząstek magnetycznych, z czego w konsekwencji wybiera do swoich badań metodę chemiczną współstrącania jonów Fe^{3+} oraz Fe^{2+} w środowisku o odczynie zasadowym. Co zadecydowało o wyborze tej techniki otrzymywania nanocząstek magnetycznych? Jej prostota, efektywność czy potencjał aplikacyjny stosowania tej metody? W przypadku zastosowania tej metody otrzymane nanocząstki charakteryzują się stosunkowo dużym rozkładem wielkości cząstek, co w przypadku ich zastosowania w aplikacjach, do których odnosi się rozprawa doktorska nie jest zaletą a raczej wadą. Jak ma się to do innych potencjalnych technik otrzymywania nanocząstek magnetycznych tego typu?

W pracy wykorzystano do modyfikacji powierzchniowej nanocząstek polimer PEG. Co zadecydowało o takim wyborze i czy były być może inne próby wykorzystania innych typów polimerów modyfikujących powierzchniowo nanocząstki, jak np. PVP?

Na stronie 84-85 Autorka opisuje badania z wykorzystaniem mikroskopu SEM i TEM odnosząc się w tekście do różnic pomiędzy obiema metodami. Odnoście mikroskopii TEM Doktorantka pisze „Urządzenia te są często wykorzystywane przy obrazowaniu materiałów stosowanych w biologii i medycynie ze względu na możliwość uzyskania bardzo dużych powiększeń”. Chciałbym nadmienić, że mikroskopia TEM w dużej mierze ma zastosowanie do materiałów niskowymiarowych typu 2D a główną zaletą tej techniki, poza rzeczywiście zdecydowanie większą rozdzielczością jak w przypadku mikroskopii SEM, jest metoda tworzonego obrazu. Mikroskopia TEM tworzy obraz na podstawie przenoszonych elektronów a nie odbitych jak w przypadku SEM, co z kolei jest najistotniejszą zaletą, gdzie obraz uzyskany tą techniką jest odzwierciedleniem struktury wnętrza całej niskowymiarowej próbki a nie tylko powierzchni próbki do czego nadaje się tylko mikroskopia SEM. Daje to zatem nie tylko obraz a informacje o strukturze całej badanej próbki a powiększenie jest jednak drugorzędym dodatkiem.

Jednym z elementów badań było wyznaczenie wielkości nanocząstek i ich modyfikacja w celu uzyskania stabilnych nanocząstek, niepowodujących ich aglomeracji, co jest oczekiwane w przypadku zastosowania tego typu cząstek magnetycznych do wykorzystania w terapii nowotworowej. Autorka modyfikuje cząstki powierzchniowo, zmienia środowisko reakcyjne, poddaje cząstki sonifikacji i analizuje widma UV-Vis oraz dokonuje analizy rozmiaru cząstek metodą DLS. W przedstawionych wynikach, w wielu przypadkach, można zauważyć, że otoczkowanie czy wybrane środowisko reakcyjne nie daje oczekiwanego rezultatu, gdyż uzyskane rozmiary cząstek (agregaty) są rzędu kilku tysięcy nanometrów (Rys. 35, 38, 40, 41, 42). Oczywiście są i rozwiązania, gdzie rozmiary nanocząstek przyjmują wielkości dziesiątek i setek nanometrów co wydaje się być już zadowalające. W mojej opinii trudno było się mi zorientować, które środowisko reakcyjne i jakie otoczkowanie jest najbardziej preferowane i czy być może dobór innego niż zaproponowane środowiska reakcyjnego (poza wodnym i olejowym) nie byłoby jeszcze lepszym rozwiązaniem. Myślę, że powinno być to w pracy bardziej wyartykułowane i udokumentowane.

W celu rozbicia nanocząstek i pozbycia się agregatów dokonywano procesu sonifikacji. W wyniku tego dochodzi do zjawiska kawitacji, czyli powstawania pęcherzyków a następnie ich kolapsu, co powoduje wytworzenie fali uderzeniowej rozbijającej agregaty. W przypadku efektów kawitacyjnych występuje gwałtowne podwyższenie temperatury. W zaistniałej sytuacji pojawia się pytanie, czy lokalna i duża zmiana temperatury nie powoduje zmiany struktury czy formy nanocząstki magnetycznej? Z doniesień literaturowych wiadomo, że temperatura może w takich przypadkach powodować zmiany form ze stabilnej formy tlenku żelaza na formę niestabilną. Czy obserwowano i badano tego typu efekty, czy też nie? Wydaje się to dość istotne z punktu widzenia pozyskania stabilnych i niezmiennych form nanocząstek magnetycznych tlenku żelaza. Zabrakło mi tego typu informacji na temat badanych nanocząstek.

Końcowy element rozprawy to dyskusja uzyskanych wyników. Jest ona wyczerpująca i odnosi się do wszystkich elementów i badań przedstawionych w recenzowanej rozprawie. Pracę zamykają wypunktowane najważniejsze wnioski wynikające z przeprowadzonych badań i uzyskanych rezultatów badawczych. W opinii recenzenta odzwierciedlają one w pełni zrealizowane cele badawcze postawione przez Doktorantkę na wstępie pracy. Praca stanowi bardzo spójny zbiór elementów wynikających kolejno po sobie i łączących się w dobrze zorganizowaną całość. Pod względem edytorskim jest ona czytelna, dobrze wykonana, napisana poprawnym językiem zarówno pod względem stylistycznym i naukowym, co powoduje, że czyta ją się z zainteresowaniem.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi spójną i dobrze przygotowaną pracę w formie monografii, zawierającą wszystkie elementy stawiane tego typu opracowaniom i charakteryzuje się wysokim poziomem naukowym, zarówno w części analizy teoretycznej, jak i eksperymentalnej. Doktorantka wykazała, że potrafi bardzo dobrze zaprojektować program badań do rozwiązania konkretnego problemu naukowego, wykorzystując właściwe narzędzia badawcze,

stawiając jasne cele i je w pełni realizując oraz wyciągać z wykonanych badań właściwe wnioski. Uzyskane wyniki badań mają zarówno ciekawe cechy poznawcze jak również, w moim mniemaniu, aplikacyjne, gdyż takie było zamierzenie niniejszej pracy doktorskiej. Przedstawione w recenzji uwagi, jak i zadane zapytania, w żaden sposób nie umniejszają wysokiej wartości naukowej recenzowanej rozprawy j doktorskiej.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Anny Drabczyk pt. „*Nanocząstki magnetyczne jako nośniki leków przeciwnowotworowych*” spełnia wymagania ustawowe stawiane rozprawom doktorskim i zgodnie z przepisami określonymi w Prawie o Szkolnictwie Wyższym i Nauce, z 20 lipca 2018, art. 187 (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.) wnoszę o dopuszczenie jej do publicznej obrony.

Dodatkowo, ze względu na wysoki warsztat naukowy, interdyscyplinarność rozprawy doktorskiej, ogrom interesujących wyników badawczych, dorobek naukowy oraz całokształt pracy wykonanej na bardzo wysokim poziomie naukowym, wnoszę o wyróżnienie wyżej wymienionej rozprawy doktorskiej.

