

Prof. dr hab. Alina Sionkowska  
Katedra Chemii Biomateriałów i Kosmetyków  
Wydział Chemii  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Toruń, dnia 30 marca 2023r.

### Recenzja

pracy doktorskiej mgr Karoliny Karnas-Janoty pt. „Surface-modified superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for applications in modern anti-cancer therapies”

Przedstawiona do recenzji praca wykonana została na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Promotorami pracy są: dr hab. Anna Karewicz, prof. UJ, oraz dr hab. Joanna Dulińska-Litewka, prof. UJ.

W ramach pracy doktorskiej opracowano nanocząstki superparamagnetyczne, których przeznaczeniem było wychwytywanie krążących komórek raka prostaty oraz przyłączeniu do ich powierzchni chemoterapeutyków, do otrzymania układów teranostycznych, do potencjalnych zastosowań w nowoczesnych terapiach przeciwnowotworowych.

Badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej są jak najbardziej aktualne, ze względu na to, że nowotwory prostaty są jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych. W ostatnich latach rzeczywiście zaobserwowano wzrost zachorowań i zgonów na choroby nowotworowe, więc poszukiwanie metod pozwalających na zapobieganie lub ograniczenie rozprzestrzeniania się krążących w krwiobiegu komórek nowotworowych jest wyzwaniem dla świata nauki i medycyny. Niekorzystna lokalizacja zmian nowotworowych oraz niepożądane skutki uboczne, w tym guzy wtórne, zmuszają do poszukiwania alternatywnych metod leczenia, opartych na celowym i kontrolowanym dostarczaniu leków przeciwnowotworowych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa zawarta jest na 195 stronach, składa się z części literaturowej, która stanowi część teoretyczną pracy i części doświadczalnej. W części teoretycznej Doktorantka dokonała przeglądu literatury dotyczącej tematyki doktoratu, skupiając się na procesie nowotworzenia (karcynogenezy), typach nowotworów, metastazie, oraz bardziej szczegółowo na raku prostaty. Dokonała również przeglądu literatury dotyczącej nanomedycyny, superparamagnetycznych nanocząstek tlenku żelaza oraz nanokompozytów polimerowych. Ta część rozprawy w opinii recenzenta przygotowana jest bardzo dobrze, Autorka cytuje 204 pozycje literaturowe z zakresu przedmiotu badań z ostatnich lat wskazując na rozeznanie tematyki na poziomie ogólnościowym. W części doświadczalnej przedstawiono użyte materiały, wykorzystywane metody badawcze oraz zaprezentowano metodykę syntezy nanocząstek oraz ich charakterystyki. Część doświadczalna zawiera również wyniki, ich analizę, a także rozbudowaną dyskusję, opartą na szczegółowym przeglądzie literatury zawartym w części teoretycznej rozprawy. Część doświadczalna łącznie z dyskusją i podsumowaniem wskazuje na zrealizowanie postawionego celu pracy, który został sformułowany jako otrzymanie i zbadanie nanocząstek superparamagnetycznych do potencjalnych zastosowań w terapiach przeciwnowotworowych.

Przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej badania obejmowały kilka etapów. W pierwszym etapie otrzymano i zbadano superparamagnetyczne nanocząstki tlenku żelaza modyfikowane powierzchniowo kationową i anionową pochodną chitozanu. Strukturę otrzymanych cząstek zbadano za pomocą metod spektroskopowych (FTIR, XRD) natomiast rozmiar cząstek wyznaczono metodą DLS/ELS. Do obrazowania użyto mikroskopii Ramana oraz skaningowego mikroskopu transmisyjnego STEM. Właściwości superparamagnetyczne zostały potwierdzone za pomocą metody Mössbauera i magnetometrii. Przeprowadzone badania biologiczne wskazały na brak istotnych różnic pomiędzy nanocząstkami tlenku żelaza modyfikowanymi powierzchniowo kationową i anionową pochodną chitozanu. Do badania oddziaływań nanocząstek z komórkami wykorzystano mikroskopię konfokalną. Ilość użytych metod badawczych w badaniach nanocząstek, prowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej, jest imponująca.

W kolejnym etapie badano wychwyty krążących komórek nowotworowych przez nanocząstki tlenku żelaza. W tym celu zmodyfikowane powierzchniowo nanocząstki tlenku żelaza kationową pochodną chitozanu dodatkowo zmodyfikowano poprzez wprowadzenie aktywnych grup tiosiowych na ich powierzchnię. Grupy te posłużyły do przyłączania odpowiednich przeciwciał. Wykonane w tym etapie syntezy i przeprowadzone badania pozwoliły na otrzymanie i scharakteryzowanie trzech rodzajów nanocząstek do selektywnego wychwyty komórek nowotworowych (były to komórki PC-3, DU 145 oraz LNCaP). Zarówno otrzymane nanocząstki, jak też ich zmodyfikowane wersje wykazywały rozmiary nanometryczne, zachowywały stabilność koloidalną i właściwości superparamagnetyczne. Potwierdzono również brak cytotoksyczności oraz selektywność w wiązaniu z wybranymi komórkami nowotworowymi.

Kolejny etap dotyczył badań nanocząstek do zastosowania w nowoczesnych terapiach przeciwnowotworowych. W etapie tym do powierzchni zmodyfikowanych nanocząstek żelaza przyłączono wybrane leki cytostatyczne. Wyznaczono ilość przyłączonych leków oraz wykonano badania ich uwalniania. Wyniki wykazały, że otrzymano teranostyczne układy nanocząstek superparamagnetycznych. Metodami spektroskopowymi potwierdzono odpowiednio przyłączenie leków i przeciwciał. Potwierdzona została również możliwość magnetycznego nakierowywania nanocząstek do komórek i skutecznego dostarczania przeciwciał do wnętrza komórki.

W wyniku przeprowadzonych badań Doktorantka otrzymała i zmodyfikowała superparamagnetyczne nanocząstki, zbadała ich strukturę i właściwości, zbadała właściwości biologiczne oraz skuteczność w terapii nowotworów prostaty. Rozprawa doktorska jest interdyscyplinarna i łączy nauki chemiczne z naukami medycznymi. Bez wątpienia wyniki badań stanowią element nowości i wnoszą istotne elementy do istniejącego stanu wiedzy.

Przeprowadzone eksperymenty magnetycznego wychwytu komórek potwierdziły, że założony cel pracy doktorskiej dotyczący skutecznego wychwytu komórek raka prostaty został zrealizowany. Potwierdzono również możliwość magnetycznego nakierowywania nanocząstek do komórek i skutecznego dostarczania przeciwciał do wnętrza komórki, co jest potwierdzeniem zrealizowania kolejnego celu pracy doktorskiej.

Po przeczytaniu rozprawy doktorskiej nasuwają się pewne pytania, które mogą posłużyć do dyskusji w czasie obrony:

Pytania:

1. Czy przyłączenie leku za pomocą EDC-NHS nie wpływa na skuteczność leku? Czy próbowano porównać działanie leku związanego i niezwiązanego?
2. Czy można byłoby przyłączyć lek do nanocząstek na sposób fizyczny, czyli wykorzystując fizyczne czynniki sieciujące, np. promieniowanie UV, temperaturę czy inne?

Rozprawa doktorska napisana jest poprawnym językiem angielskim i przyjemnie się ją czyta. Bardzo ładna jest również jej szata graficzna. Rysunki są czytelne, krzywe na wykresach oznaczone kolorami, co bardzo ułatwia śledzenie zawartych w rozprawie wyników. Znalazłam tylko kilka drobnych usterek edycyjnych.

Nieliczne usterki to:

1. Nie udało mi się znaleźć w tekście cytacji [177].
2. Na str. 63 podano, że schemat (Schematic proces of CellSearch...) jest na rysunku 21, jednak w rzeczywistości jest to rys. 22.

3. Trudno zrozumieć, dlaczego temperatura raz jest podawana w stopniach C, innym razem w K.
4. Str. 103, jest „Figures 38-40”, powinno być „Figures 42-44”. Drobne usterki związane z numeracją rysunków występują również na str. 152 i 155.

Podsumowując, pragnę stwierdzić, że postawione przeze mnie pytania i nieliczne uwagi w żaden sposób nie obniżają wartości merytorycznej pracy. Doktorantka zrealizowała postawiony cel pracy i uzyskała wartościowe wyniki, które dokładnie opracowała i przedyskutowała. Na szczególne podkreślenie zasługuje interdyscyplinarne podejście do badanego problemu.

Praca zawiera dużo oryginalnych wyników o potencjalnym zastosowaniu w praktyce, a do najważniejszych osiągnięć rozprawy zaliczam:

1. Otrzymanie i zmodyfikowanie superparamagnetycznych nanocząstek żelaza do potencjalnego zastosowania w terapii raka prostaty;
2. Uzyskanie skutecznego wychwytu komórek raka prostaty przez otrzymane nanocząstki;
3. Wykazanie możliwości magnetycznego nakierowywania nanocząstek do komórek i skutecznego dostarczania przeciwciał do wnętrza komórki.

Biorąc pod uwagę całość badań, oryginalność i jakość wyników a także rozbudowaną ich dyskusję oraz potencjalną wartość praktyczną uważam, że praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2018 poz.1668 z późn. zm.). Wnoszę zatem o dopuszczenie mgr Karoliny Karnas-Janoty do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

  
Prof. dr hab. Alina Sionkowska