

Prof. zw. dr hab. n. farm. Justyn Ochocki
Katedra Chemii Medycznej
Zakład Chemii Bionieorganicznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź
e-mail: justyn.ochocki@umed.lodz.pl

Łódź, 4 lipca 2023

Recenzja pracy doktorskiej

pt. „Charakterystyka selektywnych sensorów do obrazowania optycznego hipoksji w komórkach nowotworowych oraz badanie jej wpływu na przeciwnowotworową efektywność polipirydylowych kompleksów Ru(II) ”

Rozprawa doktorska Pani mgr Eweliny Janczy-Cempa dotyczy charakterystyki serii sensorów optycznych w aspekcie możliwości oceny stężenia tlenu w komórkach nowotworowych jak również oceny wpływu hipoksji na działanie kompleksów Ru(II) w terapii przeciwrzutowej i fotodynamicznej.

Praca jest kontynuacją badań prowadzonych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem Pani dr hab. Małgorzaty Brindell, prof. UJ. Promotorem pomocniczym jest dr Olga Mazuryk.

Choroby nowotworowe są bardzo poważnym problemem społecznym. Występują powszechnie i są drugim, po chorobach układu krążenia, czynnikiem umieralności wśród populacji. Częstość występowania różnych nowotworów i nabywanie przez nie lekooporności sprawia, iż konieczna jest próba opracowania nowych leków. Dlatego podjęta tematyka pracy doktorskiej Pani mgr Eweliny Janczy-Cempa dotycząca badań wpływu hipoksji na efektywność działania kompleksów Ru (II) w terapii przeciwrzutowej w poszukiwaniach nowych potencjalnych leków o działaniu przeciwnowotworowym jest niezwykle nowatorska.

W ramach pracy doktorskiej Pani mgr Ewelina Janczy-Cempa scharakteryzowała serię sensorów optycznych w aspekcie wykorzystania ich do oceny stężenia tlenu w tkankach nowotworowych. Dokonała oceny wpływu hipoksji na efektywność działania polipirydylowych kompleksów Ru(II) w terapii przeciwrzutowej i fotodynamicznej.

Dysertacja opiera się na czterech artykułach naukowych opublikowanych w latach 2021 - 2022 w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym i wysokim

współczynniku wpływu (IF). W jednej pracy doktorantka jest pierwszym autorem (*Sensors & Actuators: B. Chemicals*) a w drugiej jest jednym z dwóch pierwszych współautorów (*Journal of Medicinal Chemistry*), co wskazuje na Jej dominujący twórczy udział w ich powstaniu. Pani mgr Ewelina Janczy-Cempa jest również współautorem dwóch przeglądowych artykułów naukowych, które również bezpośrednio wiążą się z tematyką przedstawioną w rozprawie doktorskiej. Na podkreślenie zasługuje fakt, że aby scharakteryzować znaczniki doktorantka wykonała bardzo dużo eksperymentów fizykochemicznych, oceniła ich zdolność do redukcji w obecności NTR typu I i II oraz przeprowadziła analizę mechanizmu i produktów reakcji, oraz ocenę powinowactwa wobec HSA z wykorzystaniem spektroskopii absorpcyjnej, fluorescencyjnej oraz metod chromatograficznych. Doktorantka przeprowadziła pracę eksperymentalną w zakresie badań biologicznych dla sond obejmującą ocenę cytotoxyczości, fototoxyczości, akumulację, detekcję NTR *in vitro* w warunkach hipoksji oraz chemicznej indukcji niedotlenienia.

Wyniki badań przedstawione w rozprawie doktorskiej prezentowane były w formie prezentacji posterowych oraz wykładów na konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym.

Układ pracy jest prawidłowy. Badania są bardzo dobrze zaplanowane i przeprowadzone. Prezentowany przegląd literatury naukowej liczy 242 odnośniki. Po starannie napisanym wyczerpującym wstępie następuje sformułowanie celu i zakresu pracy. Autorka doskonale zna fachową literaturę i opanowała zakres wiedzy niezbędny do podjęcia własnych badań. Praca napisana jest bardzo dobrze pod względem konstrukcji naukowej i edytorskiej. Bardzo piękna jest szata graficzna. Wartość merytoryczną pracy oceniam bardzo wysoko, a zakres tematyczny badań uważam za niezwykle obszerny.

Dalsza część badań dotyczyła wykorzystania polipirydylowych kompleksów Ru(II) w terapii przeciwrzutowej w tkankach hipoksycznych. Stan hipoksji aktywuje proces metastazy oraz jest często przyczyną występowania oporności na różnego rodzaju terapie antynowotworowe. W prezentowanej pracy wykazano istotny wpływ badanych kompleksów Ru(II) na wiele etapów kaskady przrutowania. Udowodniono, że badane kompleksy działają jednocześnie na właściwości adhezyjne komórek, uniemożliwiając ich oderwanie, natomiast po oderwaniu hamują ponowną adhezję. Ponadto, zaobserwowano, że komórki nowotworowe traktowane badanymi kompleksami charakteryzują się zmniejszoną mobilnością, w tym migracją, inwazją i transmigracją.

W kolejnej części zbadano wpływ niedotlenienia na efektywność działania polipirydylowych kompleksów Ru(II) w skojarzonej chemioterapii i terapii fotodynamicznej.

Potwierdzono, że badane kompleksy mogą działać jako fotosensybilizatory typu I oraz II, co umożliwiłoby przeciwdziałanie niskiej skuteczności terapii PDT w niedotlenionej tkance nowotworowej. W warunkach niedotlenienia kompleksy zachowały swoją aktywność cytotoksyczną, natomiast ich aktywność fotocytotoksyczna uległa znaczącemu pogorszeniu.

Podsumowując, przedłożona rozprawa doktorska prezentuje zbiór wyników świadczących o dużym potencjale nowej klasy sond fluorescencyjnych do detekcji niedotlenienia w guzach oraz jego korelacji z poziomem ekspresji oksydoreduktaz. Co więcej, pokazano, że hipoksja ma znaczący wpływ na skuteczność terapii przeciwnowotworowych. Niemniej jednak, pomimo niekorzystnego aspektu niedotlenienia, pokazano, iż możliwe jest efektywne wykorzystanie polipirydylowych kompleksów Ru(II) w różnych terapiach przeciwnowotworowych, w tym o działaniu antymetastatycznym i PDT również w takich warunkach, co ilustruje ich duże możliwości aplikacyjne.

Wyniki przedstawione w pracy mogą mieć istotne znaczenie kliniczne. Stwarzają nowe możliwości wykorzystania sond pirazynotriazapentalenowych do badań przesiewowych przed zastosowaniem proleków (HAPs). Może to być pomocne w celu selekcji pacjentów z nowotworami charakteryzującymi się występowaniem tkanki niedotlenionej oraz obecnością wysokich poziomów oksydoreduktaz.

Wniosek końcowy.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Eweliny Janczy-Cempa pt. *„Charakterystyka selektywnych sensorów do obrazowania optycznego hipoksji w komórkach nowotworowych oraz badanie jej wpływu na przeciwnowotworową efektywność polipirydylowych kompleksów Ru(II) ”* spełnia stawiane kandydatom do stopnia doktora kryteria określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.) i składam wniosek do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Eweliny Janczy-Cempa do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy.

Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Eweliny Janczy-Cempa
pt. *„Charakterystyka selektywnych sensorów do obrazowania optycznego hipoksji w
komórkach nowotworowych oraz badanie jej wpływu na przeciwnowotworową efektywność
polipirydylowych kompleksów Ru(II) ”*


Recenzowana praca doktorska zasługuje na wyróżnienie z powodu wszechstronności przeprowadzonych badań. Praca jest przygotowana niezwykle starannie pod względem edytorskim. Wyniki zostały opublikowane w artykułach w renomowanych czasopismach z listy Journal Citation Reports, co świadczy to o dojrzałości naukowej Doktorantki, Jej umiejętności samodzielnego formułowania i rozwiązywania problemów naukowych i prowadzenia współpracy naukowej z ośrodkami naukowymi.

Za najważniejsze osiągnięcia przedstawione w recenzowanej pracy należy uznać:

- Szeroką charakterystykę fotochemiczną i biologiczną nowej klasy sond fluorescencyjnych opartych na rusztowaniu pirazyno-1,3a,6a - triazapentalenowym dzięki, której wykazano wysoki potencjał badanych sond do nieinwazyjnego obrazowania optycznego hipoksycznej tkanki nowotworowej, charakteryzującej się nadekspresją oksydoreduktaz;
- Wyjaśnienie mechanizmu redukcji oraz identyfikacja produktów redukcji katalizowanej przez NTR w warunkach tlenowych oraz beztlenowych oraz zbadanie wpływu białka (HSA) na właściwości fotochemiczne oraz efektywność redukcji w jego obecności;
- Uzyskanie oraz charakterystyka biokonjugatu holo-transferyny z sondą fluorescencyjną w celu poprawy selektywnego dostarczenia do tkanki nowotworowej oraz zaproponowanie jego użycia jako potencjalnego podwójnego markera selektywnego dla komórek nowotworowych charakteryzujących się zwiększonym poziomem TfR oraz markera komórek niedotlenionych;
- Wykazanie silnej korelacji pomiędzy występowaniem niedotlenienia a nadekspresją konkretnych oksydoreduktaz zaangażowanych w aktywację związków nitroaromatycznym oraz poziomem redukcji badanej sondy fluorescencyjnej dla wielu linii nowotworowych;

- Wykazanie silnego działania badanych kompleksów Ru(II) na wiele celów terapeutycznych kaskady przerzutowania, co obrazuje ich duży potencjał jako potencjalnych środków przeciwnowotworowych;
- Wyjaśnienie wpływu niedotlenienia na efektywność działania polipirydylowych kompleksów Ru(II) w skojarzonej chemioterapii i terapii fotodynamicznej.

Opisana w doktoracie nowa grupa sond fluorescencyjnych opartych na ugrupowaniu pirazyno-1,3a,6a-triazapentalenowym może znaleźć potencjalne zastosowanie w klinikach jako selektywne czujniki do nieinwazyjnego obrazowania hipoksycznej tkanki nowotworowej.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Just Ochoai', is positioned in the center of the page.