



Łódź, 29.06.2022 r.

**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

prof. dr hab. Maria Bryszewska
Kierownik Katedry Biofizyki Ogólnej

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Dominiki Kulpińskiej

„Badanie właściwości wybranych nanomateriałów pod kątem ich zastosowania w terapii fototermicznej”

Promotor pracy: prof. dr hab. inż. Zbigniew Brzózka

Promotor pomocniczy pracy: dr hab. inż. Ilona Grabowska-Jadach

W swojej rozprawie doktorskiej mgr inż. Dominika Kulpińska podjęła badania dwóch grup nanomateriałów: pustych nanopowłok złota i MXenów Ti_2C w aspekcie możliwości ich zastosowania jako czynników fotoaktywnych w terapii fototermicznej (PTT). Do podjęcia tego tematu skłoniła ją niedoskonałość istniejących standardowych metod leczenia nowotworów, takich jak chemioterapia lub radioterapia, generujących wiele negatywnych skutków ubocznych szalenie uciążliwych dla pacjenta. Terapia fototermiczna jest metodą wykorzystującą substancje zdolne do zamiany energii promieniowania elektromagnetycznego (e-m) na energię cieplną. Podniesiona na skutek naświetlenia takiej substancji temperatura jej otoczenia może powodować zniszczenie komórki, czyli może być wykorzystana do zniszczenia komórek nowotworowych, jeśli do nich zostanie wprowadzona. Związki, które mają być zastosowane w charakterze czynników fotoaktywnych, muszą spełniać wiele warunków, m.in. muszą być nietoksyczne względem komórek prawidłowych, muszą kumulować się preferencyjnie w komórkach nowotworowych i muszą być zdolne do konwersji promieniowania e-m w ciepło. Nanomateriały są stosunkowo niedługo stosowane w terapii chorób nowotworowych w charakterze nanoleków (działanie *per se*), czynników w

obrazowaniu bądź też jako wektory niewirusowe, ułatwiające transport leków do komórek. Doktorantka postanowiła natomiast zbadać przydatność dwóch grup nowo zsyntezowanych nanomateriałów w terapii fototermicznej nowotworów. To bardzo ambitny cel, wymagający wielu eksperymentów i przemyśleń ze względu na złożoność badanego problemu i wpływ wielu czynników na ten proces.

Praca doktorska ma układ klasyczny. Metodyka badań, zastosowane materiały, opis i dyskusja uzyskanych wyników badań są poprzedzone obszernym wstępem - „Przełogdem Literaturowym”. Jest to szeroki i dobrze napisany przegląd dotyczący współczesnych metod leczenia nowotworów, nanomateriałów stosowanych w terapiach przeciwnowotworowych, wykorzystania hodowli komórkowych różnego typu do badań nad nowymi lekami. Sporo miejsca poświęciła tu Doktorantka opisowi terapii fototermicznej, warunków jej stosowania i ograniczeń.

Część doświadczalna składa się z kilku podrozdziałów: celu pracy, opisu zastosowanych metod i odczynników oraz opisu uzyskanych wyników. Część doświadczalną kończy podsumowanie całości uzyskanych rezultatów oraz wyciągnięte wnioski. Ostatnim rozdziałem jest obszerny wykaz literatury zawierający 354 pozycje.

Doktorantka zrealizowała swoje zamierzenia badawcze stosując różnorakie nowoczesne techniki badawcze, w tym techniki mikroskopowe, optyczne i hodowli komórkowych 2D i 3D.

Badania objęły następujące 2 grupy nanomateriałów: (i) puste nanopowłoki złota niemodyfikowane i modyfikowane powierzchniowo PEG-COOH, PEG-NH₂ lub aptamerami DNA: AS141111 (wiązący nukleolinę) i anty-MUC1 (wiązący mucynę-1) oraz (ii) MXeny Ti₂C.

Synteza pustych nanopowłok złota, a także modyfikacja ich powierzchni została wykonana przez dr inż. Marcina Drozda z Katedry Biotechnologii Medycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej, analiza ich składu (zawartość Au i Ag) przez dr hab. inż. Sławomira Oszwałdowskiego z Zakładu Mikrobioanalitki PW, zaś synteza, modyfikacja powierzchni MXenów i ich charakterystyka fizyko-chemiczna na Wydziale Inżynierii Materiałowej PW w zespole dr hab. inż. Agnieszki Jastrzębskiej. Badania cytotoksyczności MXenów wykonała dr inż. Agnieszka Szuplewska z Katedry Biotechnologii Medycznej PW. W tym miejscu mam uwagę: myślę, że wystarczyłoby poinformowanie o tym fakcie tylko w jednym miejscu, np. na początku, a nie kilkakrotnie w różnych miejscach rozprawy. Zastanawiam się też, czy zasadne

było umieszczanie w części doświadczalnej opisu prac (np. syntezy i charakterystyki badanych nanomateriałów), których Doktorantka nie wykonywała samodzielnie, czy nie wystarczyło powołanie się na istniejące publikacje. Wg recenzenta zwiększyłyby to przejrzystość opisu, skróciło cały tekst i pozwoliło oddzielić pracę Doktorantki od wkładu innych osób. Uwaga ta nie krytykuje tego wkładu, bo to oczywiste, że podczas badań nanomateriałów korzysta się zazwyczaj z wytworzonych w innych zespołach gotowych „produktów” lub związków dostępnych komercyjnie.

W pierwszym etapie sprawdzono, czy nanomateriały wzięte do badań spełniały podstawowy warunek, tj. posiadały zdolność konwersji promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną. Wszystkie materiały, zarówno niemodyfikowane jak i modyfikowane powierzchniowo, spełniały ten warunek w mniejszym lub większym stopniu, więc zostały poddane dalszym badaniom cytotoksyczności bez naświetlania, w szczególności w stosunku do linii komórek prawidłowych.

Doktorantka w badaniach zastosowała 3 pary linii komórkowych człowieka: 2 linie komórkowe skóry (HaCaT i A375), 2 linie komórkowe piersi (MCF-10A i MCF-7) i 2 linie komórkowe płuc (MRC-5 i A549). W każdej parze znajdowała się 1 linia prawidłowa i jedna nowotworowa, co umożliwiło porównanie efektywności działania badanych nanomateriałów w procesie terapii fototermicznej na komórki prawidłowe i nowotworowe. Dodatkowo w pracy z komórkami Doktorantka zastosowała 2 modele badawcze: komórki w hodowli mono warstwowej 2D i komórki piersi i płuc w hodowli 3D (sferoidy) lepiej odwzorowującej sytuację w organizmie.

Żaden z zastosowanych nanomateriałów nie przejawiał *per se* znaczącej toksyczności w stosunku do komórek prawidłowych. Naświetlanie promieniowaniem laserowym o długości fali 808 nm powodowało znaczące obniżenie żywotności komórek, które było jednak bardzo zróżnicowane w zależności od rodzaju komórek, stężenia nanomateriału, modyfikacji powierzchniowej materiału determinującej jego wnikanie do wnętrza komórki. Doktorantka konkluduje, że w związku z zależnością efektywności terapii fototermicznej od tak wielu czynników, należy do leczenia każdego nowotworu dobierać indywidualnie rodzaj, stężenie, modyfikację powierzchni stosowanego nanomateriału.

Rozprawa zawiera wiele elementów nowości naukowej, w tym modyfikację aptamerem nanomateriału w procesie terapii fototermicznej, wykorzystanie wielokomórkowych

sferoidów do sprawdzenia nanopowłok złota jako czynników fotoaktywnych w tej terapii i zastosowanie mikrosystemów przepływowch w procedurze PTT do określenia jej skuteczności i selektywności. Uzyskane w pracy wyniki są opublikowane w pięciu bardzo dobrych periodykach naukowych i w recenzowanych materiałach pokonferencyjnych ze współautorstwem Doktorantki, co świadczy o ich jakości naukowej.

Praca jest dosyć starannie opracowana pod względem edytorskim, jednakże Doktorantka nie ustrzegła się licznych drobnych błędów, tzw. literówek, kilku lapsusów językowych. Nie sądzę, aby było wskazane wymienianie ich w tym miejscu, ponieważ nie mają wpływu na moją wysoką ocenę rozprawy. Chcę tylko zwrócić uwagę, że nie powinno się mówić „naświetlanie laserem” lecz „naświetlanie promieniowaniem laserowym”.

Podsumowując uważam, że praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom naukowym na stopień naukowy doktora nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk chemicznych, zwracam się więc do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Warszawskiej z prośbą o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr inż. Dominiki Kulpińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

