Prof. dr hab. inż. Ewa Białecka-Florjańczyk
Katedra Chemii WNoŻ SGGW
Nowoursynowska159c, 02-787 Warszawa
e-mail: ewa_bialecka_florjanczyk@sggw.pl

Warszawa 08 06 2019

Recenzja

osiągnięcia naukowego pt. „Liotropowe lipidowe fazy ciekłokrystaliczne jako układy do podawania i kontrolowanego uwalniania leków"

oraz całokształtu dorobku naukowego i dydaktycznego dr Ewy Nazaruk

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Dr Ewa Nazaruk jest adiunktem w Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Stopień doktora nauk chemicznych w zakresie chemii uzyskała na Wydziale Chemii UW w 2009 roku na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Wykorzystanie ciekłokrystalicznych faz lipidowych do unieruchamiania enzymów na elektrodach", której promotorem była prof. dr hab. Renata Bilewicz.

Powyższa opinia została sporządzona na podstawie materiałów przygotowanych przez Habilitantkę, przy uwzględnieniu kryteriów oceny osiągnięć ubiegającego się o nadanie stopnia doktora habilitowanego przytoczonych w Rozporządzeniu MNiSW z dnia 1 września 2011 r. (Dz.U.Nr 196, poz.1165)

Ocena osiągnięcia naukowego przedłożonego w celu uzyskania stopnia doktora habilitowanego

Podstawowym osiągnięciem Habilitantki jest cykl ośmiu artykułów opublikowanych w latach 2012-2019 dotyczących kontrolowanego dawkowania leków przy wykorzystaniu liotropowych faz ciekłokrystalicznych generowanych za pomocą związków lipidowych.

Fazy liotropowa jest rezultatem samoagregacji związków amfifilowych w odpowiednim rozpuszczalniku – przykładem może być błona komórkowa powstała w wyniku oddziaływania fosfolipidów z wodą. Z tego typu procesami mamy do czynienia w innych układach zawierających emulgatory, takie jak monoestry glicerolu i kwasów tłuszczowych oraz estry kwasów tłuszczowych i sacharozy lub sorbitanu – są one istotnymi elementami struktury produktów spożywczych. Spontaniczna agregacja cząsteczek odbywa się przede pod wpływem oddziaływań hydrofobowo-hydrofilowych i z tego powodu jest zależna od wielu czynników zewnętrznych takich jak na przykład temperatura, pH, dodatki oraz stężenia poszczególnych komponentów. Powyższa okoliczność stwarza możliwości łatwego

sterowania właściwościami fazy liotropowej i ten efekt znajduje zastosowanie praktyczne. Szczególne zainteresowanie w ostatnich latach budzi możliwość kontroli dozowania leków za pośrednictwem fazy kubicznej i heksagonalnej. Jeszcze korzystniejsze właściwości, a przede wszystkim mniejszą lepkość, mają fazy liotropowe występujące w postaci nanocząstek – kubosomów lub heksozomów.

W przedstawionym cyklu prac fazy liotropowe otrzymywano z typowych surowców - nienasyconych monoglicerydów lub fitantriolu, a modelową substancję aktywną stanowiła doksorubicyna - antybiotyk z grupy antracyklin o działaniu przeciwnowotworowym. W pierwszych dwóch pracach [H1], i [H2] doksorubicynę wbudowano w liotropową fazę kubiczną, a proces uwalniania zgodny z modelem Higuchi sterowany był przy pomocy dodatków (lipid zawierający dwie grupy karboksylowe) i pH - lek uwalniany jest szybciej przy mniejszym pH (a takie jest w otoczeniu guza), ponieważ przyjmuje wówczas postać sprotonowaną i znajduje się głównie w kanałach wodnych fazy kubicznej.

W dalszych pracach H3, H4 podejmowano rozmaite, z reguły zakończone sukcesem, próby poprawienia efektywności i selektywności metody stosując oprócz fazy kubicznej również heksagonalną, obie w postaci nanocząstek. Wiele miejsca poświęcono zagadnieniu kontrolowanego uwalniania leku, na które wpływa rodzaj fazy ciekłokrystalicznej, zmiana szerokości kanału wodnego w strukturach liotropowych, zmiana ładunku na ścianach kanału wodnego w połączeniu ze zmianą pH oraz oczywiście lipofilowość leku. Ta ostatnia zależność była badana na przykładzie witamin z grupy K w artykule H5. W tej samej pracy Habilitantka powróciła do zainteresowań z okresu przygotowywania rozprawy doktorskiej przeprowadzając immobilizację enzymu dehydrogenazy glukozowej w fazie kubicznej, co stworzyło możliwości wykorzystania układu w projektowaniu biosensorów.

Kolejne prace wprowadzają dalej idące modyfikacje zastosowań, zmierzające przede wszystkim do wykorzystania nanocząstek. W H6 Habilitantka zajęła się oddziaływaniem kubosomów z membranami (DPPC) w aspekcie dezintegracji i uwalniania substancji czynnej. Nowością i zaletą przedstawionego przez Nią rozwiązania było zastosowanie monowarstwy lipidowej znajdującej się na powierzchni wody (warstwa Langmuira-Blogett), co stworzyło możliwość kontroli upakowania warstwy, a ponadto stanowiło pewną analogię do swobodnej błony komórkowej. Z pierwszych rezultatów wynika, że o oddziaływaniu z kubosomami decyduje upakowanie warstwy lipidowej; planowane są dalsze badania.

W pracy H7 z kolei badane są kubosomy o symetrii Im3m uwalniające doksorubicynę na skutek zmiany pH spowodowanej przez komórki nowotworowe linii glejaka T98G.

W ostatniej pracy z cyklu - H8- zastosowano aktywne kierowanie nanonośników do tkanki docelowej. Metoda ta polega na zastosowaniu ligandów bezpośrednio wiążących nanocząstki do receptorów, które ulegają niskiej ekspresji w błonie komórek zdrowych, natomiast nadekspresji w chorej tkance. Rozpoznawany receptor może być

charakterystyczny dla nowotworu lub tkanki, w której rozwija się nowotwór. Znanym przykładem jest kwas foliowy, którego receptor ulega nadekspresji w wielu ludzkich nowotworach, takich jak rak jelita grubego, jajnika czy piersi, a nie jest prezentowany w większości normalnych tkanek. Na przykładzie linii komórkowych KB i HeLa (rak szyjki macicy) stwierdzono, że zastosowanie kubosomów modyfikowanych kwasem foliowym rzeczywiście zwiększało stężenie leku w komórkach nowotworowych.

Podsumowując należy podkreślić wielką staranność, z którą zostały przeprowadzone eksperymenty – w każdym przypadku identyfikowano metodą SAXS fazy liotropowe nie tylko samego nośnika lecz także wszystkich układów zawierających dodatki (DOX, LA, CA). Stwierdzono, że w zakresie stosowanych stężeń zachowywały one strukturę kubiczną. Wyznaczono też (SAXS) parametry fazy kubicznej tworzonej przez monoglicerydy i fitantriol, a przede wszystkim szerokość kanałów wodnych. We wszystkich przypadkach oprócz działania nośnika zawierającego lek wykonywana była próba dla samego nośnika – ze względu na zastosowane komponenty układu nie zostało stwierdzone szkodliwe oddziaływanie. Badano kinetykę uwalniania leku oraz oznaczano jego stężenie za pomocą metod elektrochemicznych (doksorubicyna jest substancją aktywną elektrochemicznie) w warunkach dyfuzji liniowej i sferycznej oraz podjęto udaną próbę zastosowania konkretnych modeli matematycznych do tego opisu.

Prace zostały opublikowane w czasopismach z dziedziny elektrochemii, analizy i zjawisk powierzchniowych takich jak Langmuir (H1, H2, H6), J. Electroanal. Chem.(H3, H4), J. Colloid Interface Sci. (H5), ChemPlusChem (H7), Electrochimica Acta (H8), dla których wartość IF wynosiła od 3,172 do 5,116. Prace są wieloautorskie (od 3 do 7autorów), Habilitantka jest pierwszym autorem w sześciu z nich, ale Autorem korespondującym jedynie w dwóch, chociaż Jej wkład w powstanie tych prac wynosi od 50 do 70%, wg deklaracji Autorki i współautorów.

Oceniając tę część dorobku Habilitantki stwierdzam, że należy ją uznać za osiągnięcie naukowe spełniające wymogi ustawy. Niewątpliwą nowością jest szerokie wykorzystanie odpowiednio dobranej metodyki elektrochemicznej do określania stężenia modelowej doksorubicyny oraz rozwiązania wykorzystane w badaniach nad oddziaływaniem nanocząstek materiałów ciekłokrystalicznych z membranami.

Ogólna ocena dorobku Habilitantki.

Dr Ewa Nazaruk ukończyła w 2003 roku Wydział Chemii UW, a w 2009 roku obroniła z wyróżnieniem pracę doktorską na tym samym Wydziale. Następnie była zatrudniona przez rok na etacie asystenta, a od 2011 roku pracuje jako adiunkt na Wydziale Chemii UW. Poza omówionymi poprzednio ośmioma pracami wchodzącymi w skład habilitacji jest współautorką 16 artykułów opublikowanych w czasopismach znajdujących się w bazie JCR.

Większość z nich związana jest z tematyką pracy doktorskiej Habilitantki tzn. z konstrukcją elektrod opartych na wykorzystaniu ciekłokrystalicznej matrycy lipidowej (z zastosowaniem nanorurek węglowych), w której unieruchamiano enzymy redoks, przede wszystkim lakazę. Takie elektrody mogą być następnie użyte do konstrukcji ogniwa paliwowego. Z trzech prac opublikowanych w 2018 roku dwie również dotyczą zbliżonej tematyki tzn. badań monowarstwy utworzonej przez surfaktant lub fosfolipid na granicy powietrze/woda i zastosowania fazy kubicznej do konstrukcji elektrod enzymatycznych.

Sumaryczny IF dla wszystkich opublikowanych prac wynosi 83,541, liczba cytowań bez autocytowań wg Web of Science 435, a indeks Hirscha 14. Dorobek taki moim zdaniem zasługuje na miano solidnego tym bardziej, że dr Ewa Nazaruk publikuje wyłącznie w czasopismach z listy JCR. Brak w nim może tylko jakiejś pracy przeglądowej dotyczącej ostatnio prezentowanej tematyki (przegląd dotyczący wykorzystania fazy kubicznej w biosensorach został opublikowany przez Habilitantkę w 2008 roku w Anal. Bioanal. Chem.). Do wyżej wymienionych osiągnięć dr Nazaruk należy dodać dwa wykłady wygłoszone na konferencjach międzynarodowych i ponad 40 komunikatów konferencyjnych.

Dużą pozycję w dorobku Habilitantki zajmują liczne projekty badawcze, którymi kierowała lub w których uczestniczyła jako wykonawca. Głównym wykonawcą była w pięciu projektach: NCBiR, MNiSW, NCN oraz dwóch polsko-szwajcarskich. Trzy z nich dotyczyły biomedycznych lub bioenergetycznych zastosowań lipidowych materiałów ciekłokrystalicznych. Dr Nazaruk kierowała także dwoma zakończonymi i rozliczonymi projektami NCN i MNiSW, a kolejny (NCN, opus 13 pt. „Nanostrukturalne ciekłokrystaliczne lipidowe nośniki chemioterapeutyków oraz emiterów promieniowania korpuskularnego do zastosowań w celowanej terapii nowotworów") rozpoczęty został w 2018 roku. Badania dotyczące nanocząstek lipidowych prowadzone przez Habilitantkę były także finansowane przez ISIS Neutron and Muon Source (Oxfordshire) i Institut Laue-Langevin (Grenoble). W ramach współpracy z innymi ośrodkami naukowymi dr Nazaruk odbyła pięć krótkoterminowych staży zagranicznych w Szwajcarii, Szwecji i Czechach; jest także członkiem International Society of Electrochemistry i Bioelectrochemical Society.

Wszystkie wyżej wymienione osiągnięcia predestynowały Habilitantkę do otrzymania takich wyróżnień jak Nagroda Naukowa II stopnia Rady Wydziału Chemii UW w 2011 roku, Nagroda Naukowa im A. Grabowskiego w 2016 roku oraz wyróżnienie Rektora UW za wybitne osiągnięcia naukowe w bieżącym roku.

Dorobek dydaktyczny

Pracując przez 10 lat jako nauczyciel akademicki dr Ewa Nazaruk prowadziła zajęcia dydaktyczne dla studentów pierwszych lat Wydziału Chemii, Biologii a także Inżynierii Nanostruktur oraz Energetyki i Chemii Jądrowej (ćwiczenia rachunkowe i laboratorium

z chemii ogólnej). Ponadto była promotorem czterech prac licencjackich i opiekunem sześciu prac magisterskich i dwóch licencjackich. Można zatem powiedzieć, że aktywnie uczestniczy w działalności dydaktycznej macierzystego Wydziału.

Zazwyczaj poddawany jest także ocenie tzw. dorobek organizacyjny Habilitanta. W dostarczonych materiałach nie znalazłam informacji na ten temat, ale sądzę, że spełnianie przez dr Nazaruk funkcji kierownika dwóch rozliczonych grantów stanowi wystarczający dowód Jej umiejętności organizacyjnych.

Wniosek końcowy

Przedłożone do recenzji dokumenty dotyczące postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Ewy Nazaruk jednoznacznie wskazują, że Habilitantka posiada odpowiedni dorobek naukowy i dydaktyczny. Stwierdzam więc, że Pani dr Ewa Nazaruk spełnia wszelkie wymagania merytoryczne i formalne Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i wnioskuję do Rady Wydziału Chemii UW o dopuszczenie Habilitantki do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

E. Bisztenka