



UNIWERSYTET GDAŃSKI
WYDZIAŁ CHEMII



prof. dr hab. inż.
Tadeusz Ossowski

Gdańsk, 2019.08.28

Ocena pracy doktorskiej mgr Wioletty Liwińskiej
**„Systemy hydrożelowe modyfikowane oligonukleotydami
jako potencjalne nośniki leków”.**

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska pt. *„Systemy hydrożelowe modyfikowane oligonukleotydami jako potencjalne nośniki leków”* została przygotowana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego pod opieką promotora prof. dr. hab. Zbigniewa Stojka. Zespół, w którym została wykonana praca jest dobrze znany w kraju i za granicą jako ośrodek badań nad teorią i zastosowaniem elektrod w analityce elektrochemicznej, ale również w szeroko rozumianych procesach elektrodowych, czy też ogólniej w analizie zjawisk transportu na granicy faz elektrolit elektroda stała. Godny uwagi wydaje się być fakt, że dysertacja jest kontynuacją bardzo ciekawych badań prowadzonych przez Zespół Pana Promotora nad syntezą i właściwościami hydrożeli w połączeniu z aktywnością biologiczną transportowanych przez nie połączeń terapeutycznych.

Współczesna technologia przygotowania farmaceutyków oraz techniki ich wprowadzania do organizmu próbują zrealizować podstawowy cel, polegający na opracowaniu sposobu dostarczenia specyfiku w taki sposób by docierał on bezpośrednio do miejsca będącego przyczyną występowania stanu chorobowego. Uzyskanie go ograniczałoby dawkę stosowanego leku oraz pozwoliłoby na minimalizację jego toksycznego wpływu oraz powstawania działań ubocznych w organizmie. Proponowane są różne metody uzyskania tego celu. Jednym ze sposobów realizacji tego zadania jest zastosowanie nośników leków. Odpowiednie układy transportujące zwiększają prawdopodobieństwo dostarczenia leku w miejsce działania, zmniejszają dystrybucję leku w całym organizmie oraz umożliwiają jego ciągłe i przedłużone uwalnianie. Przedstawiona mi do recenzji praca koncentruje się nad syntezą i badaniem takich molekularnych nośników po przez wykorzystanie elementów nowoczesnej chemii oraz badanie zjawisk z pogranicza chemii i biologii. Z tego punktu widzenia przedstawiona mi do recenzji praca doktorska to interesujące studium

poszukiwania nowych połączeń o potencjalnym zastosowaniu w wielu dziedzinach chemii, biologii czy medycyny.

Układ pracy doktorskiej mgr Wioletty Liwińskiej pod wyżej wspomnianym tytułem jest klasyczny. Praca zawiera typowe dla rozprawy doktorskiej rozdziały: wstęp i cele pracy, część teoretyczną (lepiej chyba literaturową), częścią eksperymentalną, zakończoną końcowymi wnioskami oraz spisem cytowanej literatury. Dysertacja liczy 183 strony, 84 tabel oraz 85 rysunków.

Dokonując oceny prezentowanej pracy na początku należy odnieść się do podstawowych celów rozprawy. Zostały one sformułowane jako synteza i badanie właściwości wybranych nośników leków przeciwnowotworowych. Autorka postanowiła skupić się na syntezie materiałów hydrożelowych w skali makro i nano. Uzyskane materiały żelowe doktorantka postanowiła zmodyfikować oligonukleotydami. Przedmiotem badań były wydajność akumulacji i szybkość uwalniania substancji leczniczej. Wstęp i cel badań jest relatywnie obszerny, a cele cząstkowe zostały zdefiniowane wyjątkowo starannie i dotyczyły uzyskania hydrożelu o zwiększonej zdolności akumulowania leków, opracowania syntezy hydrożeli w skali makro i nano, stworzenie hydrożeli degradowanych pod wpływem temperatury oraz synteza hydrożeli degradowanych pod wpływem czynników redukujących.

W części teoretycznej (55 stron) doktorantka dokonała przeglądu literaturowego nośników leków, hydrożeli polimerowych, nanożeli i mikrożeli polimerowych oraz roli oligonukleotydów w systemach dostarczania leków.

Opis aktualnego stanu wiedzy na temat nośników leków z podziałem na te utworzone z materiałów nieorganicznych i organicznych jest bardzo staranny, obejmuje aktualne dane literaturowe i może stanowić wartościowe kompendium wiedzy w tym zakresie. Doktorantka zwraca uwagę, że nieorganiczne nośniki leków oparte o porowate nanocząsteczki tytanu, glinu, czy krzemionki mają tendencje do cytotoksyczności i kumulowania się w organizmie ludzkim, co może prowadzić do przewlekłych stanów zapalnych tkanek, a także uszkodzenia błon komórkowych i mitochondrii. Natomiast zaletą stosowania polimerowych nośników leków jest biokompatybilność oraz duży potencjał pod względem możliwości modyfikacji, co pozwala na ich lepsze dopasowanie do konkretnych zadań. Układy organiczne, w przeciwieństwie do nieorganicznych nośników leków, posiadają większą możliwość biodegradacji, co zapobiega ich akumulacji w organizmie i ułatwia ich usuwanie.

Stosunkowo najszerszej doktorantka opisała hydrożele polimerowe. Dzięki specyficznej budowie materiały hydrożelowe mają cechy zarówno cieczy jak i ciał stałych. Doktorantka wykazała, że ze względu na dobre zdolności sorpcyjne, biokompatybilność, dobrą odporność termiczną i wytrzymałość mechaniczną, połączenia tego typu są doskonałym materiałem do budowy szerokiej gamy nośników leków. Autorka dokonała szczegółowego podziału hydrożeli ze względu na pochodzenie, typ oddziaływań między łańcuchami polimerowymi oraz ze względu na rodzaj substancji budującej sieć. Doktorantka opisała również właściwości hydrożeli ze względu na rodzaj sieciowania i czułość środowiskową. Przedstawiony opis

metod syntezy pomaga czytelnikowi lepiej zrozumieć różnorodność struktur otrzymywanych w wyniku polimeryzacji oraz potencjał możliwości ich zastosowania.

Doktorantka starannie omawia metody modyfikacji nanożeli materiałem biologicznym wskazując trzy mechanizmy: mechanizm modyfikacji fizycznej, modyfikacji chemicznej oraz samoorganizacji materiału biologicznego na powierzchni nanożelu. Uwzględniła również modyfikację żeli za pomocą cząstek biologicznie czynnych, które poprawiają ich biodostępność i zmniejszają cytotoksyczność ustrojową.

W części eksperymentalnej doktorantka dowiodła, że jest w stanie trwale unieruchamiać dsDNA w matrycy poliamidowej bez konieczności tworzenia wiązań kowalencyjnych między DNA a strukturą polimerową. Istotnym wynikiem badań było wykazanie, że proces utlenienia zasad azotowych można przeprowadzić bezpośrednio w sieci hydrożelu. Doktorantka udowodniła, że wykorzystując techniki elektrochemiczne potrafi monitorować zmiany strukturalne cząstek DNA w sieci hydrożelu.

Ważnym etapem badań było wskazanie funkcji aplikacyjnych nanożeli, związanych z akumulacją i uwalnianiem leku przeciwnowotworowego. Doktorantka wykazała, że tego typu układy charakteryzują się przedłużonym w czasie uwalnianiem substancji leczniczej. Natomiast badania komórkowe wykazały dobrą biokompatybilność nośników oraz wysoką skuteczność niszczenia komórek nowotworowych.

W pracy badano dwie drogi uwalniania leku w temperaturze 45 °C oraz 70 °C. Interesuje mnie skąd taki dobór temperatur? Wskazano, że, zmiana środowiska reakcji na lekko kwaśne, obserwowane w tkankach nowotworowych, ma również wpływ na ilość uwalnianego leku. Badania na komórkach wykazały, że zarówno nanożele jak i produkty ich temperaturowej degradacji nie stanowiły zagrożenia dla komórek organizmu. Natomiast testy cytotoksyczności nośników zawierających doksorubicynę wykazały wysoką skuteczność niszczenia komórek nowotworowych.

Doktorantka zsyntezowała również nanożele modyfikowane odcinkami DNA kowalencyjnie włączonymi w strukturę nanożelu, zawierającymi w swojej strukturze mostki disiarczkowe. Pod wpływem czynnika redukującego, glutationu, obserwowano rozszczepienie nici DNA z jednoczesnym uwolnieniem leku. Zmiany konformacyjne rozluźniające strukturę DNA pod wpływem temperatury oraz redukcja grup disiarczkowych wpływają na zwiększoną wydajność uwalniania leku w komórkach nowotworowych. Doktorantka wskazuje, że badania komórkowe dają nadzieję, że dzięki obecności nanohydrożelowego nośnika zminimalizowane zostaną negatywne efekty wiązania doksorubicyny przez białka osocza. Wiedza w tym zakresie ma istotne znaczenie na zakres praktycznych aplikacji badanych antracyklin, które są ważnymi lekami przeciwnowotworowymi.

Praca doktorska Pani mgr Wioletty Liwińskiej zawiera interesujący materiał doświadczalny. Doktorantka zsyntezowała szereg nowych hydrożeli w postaci makrożeli oraz nanożeli. Wysoko należy ocenić opracowane metody syntezy żeli, sposób ich oczyszczania oraz badania hydrożeli w różnych formach zmodyfikowanych materiałem genetycznym. Dokładana analiza fizykochemiczna zsyntezowanych nośników oraz zbadanie akumulacji i uwalniania wybranego leku przeciwnowotworowego to najważniejsze cele zrealizowanego projektu.

Doktorantka w pełni wywiązała się z postawionych zadań. Pracę oceniam wysoko, pomimo niewielu drobnych błędów edytorskich, które jednak nie umniejszają merytorycznej, bardzo pozytywnej oceny pracy. Na przykład nie rozumiem, dlaczego Doktorantka do dializy używa czystej wody dejonizowanej, czy nie można użyć brudnej wody dejonizowanej? (Strona 114), na rysunkach występują wykresy A i B ale zabrakło odpowiedniego oznaczenia Rys 39, 36.

Znaczna część pracy doktorskiej (8 publikacji) została opublikowana w bardzo dobrych, wysoko impaktowanych czasopismach z listy filadelfijskiej. Mgr Wioletta Liwińska prezentowała wyniki swojej pracy na szeregu konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych.

Prace doktorską Pani mgr Wioletty Liwińskiej uważam za bardzo wartościową. Zawiera ona bogaty i ciekawy materiał doświadczalny. Bardzo dobry dorobek naukowy oraz fakt, że większa część badań została już opublikowana pozwala mi wystąpić do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Wioletty Liwińskiej w pełni spełnia wymogi ustawy „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65 poz. 595) i wnioskuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

