



WYDZIAŁ BIOLOGII  
i OCHRONY  
ŚRODOWISKA

Uniwersytet Łódzki

Łódź, 19.08.2023 r.

prof. dr hab. Maria Bryszewska  
Kierownik Katedry Biofizyki Ogólnej

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Edyty Maroń

**„Magnetoliposomy jako kontrolowany magnetycznie system dostarczania leków  
przeciwnowotworowych do komórek w hodowlach *in vitro*”**

**Promotorzy pracy:** Prof. dr hab. inż. Michał Ludwik Chudy (Politechnika Warszawska)  
i Prof. dr hab. Paweł Krysiński (Uniwersytet Warszawski)

Konwencjonalna chemioterapia, mimo wielu lat badań na jej ulepszenie, cały czas nie spełnia pokładanych w niej oczekiwań. Od pewnego czasu, z racji burzliwego rozwoju nanotechnologii, badana jest możliwość zastosowania nanomateriałów w charakterze nanotransporterów leków bądź jako leków *per se*. Fundamentalną rolę odgrywają tutaj właściwości stosowanych nanoformulacji, w pierwszym rzędzie brak toksyczności w stosunku do zdrowych tkanek, brak reakcji ze strony układu odpornościowego po ich podaniu oraz ich dystrybucja w organizmie.

Praca doktorska mgr inż. Edyty Maroń składa się z czterech (głównych) części: części teoretycznej nazwanej Przeglądem Literaturowym, z opisu pracy badawczej zawierającego tezy i cele pracy, opisu użytych materiałów i metodyki przeprowadzonych badań oraz dyskusji uzyskanych wyników. Kolejne części stanowią Podsumowanie i Wnioski oraz wykaz literatury. Przegląd Literaturowy jest szerokim i bardzo dobrze napisanym przeglądem wprowadzającym czytelnika w zagadnienia dotyczące przede wszystkim biofizyki liposomów i magnetoliposomów, techniki ich otrzymywania, enkapsulacji leków wewnątrz liposomu, zaś nanocząstek magnetycznych w dwuwarstwie lipidowej, modyfikacji powierzchniowej w celu otrzymania jak najbardziej wydajnego systemu dostarczania leków przeciwnowotworowych do komórek.

Przestudiowane przez doktorantkę doniesienia literaturowe pozwoliły na sformułowanie kilku hipotez badawczych, zweryfikowanych następnie w toku przeprowadzonych badań i w wyniku uzyskanych rezultatów. Dwie pierwsze hipotezy zakładały, że nanocząstki magnetyczne można wbudować do dwuwarstwy liposomów a otrzymane w ten sposób magnetoliposomy mogą być nośnikami leków przeciwnowotworowych. Kolejne dwie hipotezy dotyczyły możliwości wykorzystania pola magnetycznego (i) do degradacji magnetoliposomów (pole o niskiej częstotliwości) w celu uwolnienia zawartości (leku) i (ii) pola stałego do ukierunkowanego dostarczania leków. Czwarta hipoteza miała pomóc zweryfikować pogląd, że mikrosystem przepływowy Cell-on-a-Chip, dokładniej odwzorowujący środowisko nowotworu niż hodowla komórek 2D, może być wykorzystany do oceny efektywności działania leków dostarczanych w magnetoliposomach.

Nośnikami leków badanymi w niniejszej pracy były opracowane przez doktorantkę liposomy z wbudowanymi superparamagnetycznymi nanocząsteczkami tlenku żelaza, tzw. magnetoliposomy, otrzymane w wyniku inkorporacji hydrofobowych nanocząstek żelaza do hydrofobowego rejonu dwuwarstwy lipidowej składającej się z dwóch fosfolipidów – DPPC i DSPC. Taki dobór lipidów zapewniał pożądaną temperaturę głównego przejścia fazowego powyżej 37 °C. We wnętrzu magnetoliposomów zamykano dwa różne leki przeciwnowotworowe - doksorubicynę lub mitoksantron. Doktorantka postanowiła dowieść, że tak skonstruowany nośnik można wykorzystać dwojako – do ukierunkowanego dostarczania leków przy zastosowaniu stałego pola magnetycznego oraz uwalniania leczniczej zawartości na drodze mechanicznego rozpadu magnetoliposomu pod wpływem przyłożonego

zmiennego pola magnetycznego o niskiej częstotliwości, co pozwala uniknąć efektu termicznego. Do oceny potencjalnego biomedycznego zastosowania stworzonych magnetoliposomów doktorantka zastosowała dwie linie komórkowe: MCF-7 – ludzką linię komórkową raka sutka i MCF-10A ludzką linię prawidłowych komórek nabłonkowych z gruczołu sutkowego. Warto podkreślić, że oprócz klasycznej, standardowej metody hodowli komórek 2D (monowarstwa), doktorantka zastosowała zbliżony do warunków panujących w organizmie model hodowli 3D o charakterze sferoidów w warunkach przepływowych w odpowiednim mikrosystemie.

Już na etapie konstruowania badanych nośników (liposomów i magnetoliposomów) doktorantka wykazała prawdziwość dwóch pierwszych hipotez, zaś dwie kolejne zostały potwierdzone w trakcie wykonywania szerokich, bogato zaplanowanych badań z wykorzystaniem nowoczesnych technik biofizycznych. Nie jest rolą recenzenta szczegółowe omawianie uzyskanych przez Doktorantkę wyników, lecz ich ocena.

Niewątpliwie na podkreślenie nowatorstwa i ważności tej pracy zasługuje fakt, że doktorantce udało się uzyskać nośnik „wielofunkcyjny”, tj. posiadający możliwości zamykania leku/leków we wnętrzu, ukierunkowanego dostarczania do odpowiedniego miejsca (stałe pole magnetyczne), uwalniania zawartości poprzez destrukcję błony liposomalnej przez wolnozmienne pole magnetyczne bez wywoływania efektów termicznych. Opracowanie przez doktorantkę i zastosowanie do badań hodowli 3D komórek w postaci sferoidów zamiast klasycznej, najczęściej stosowanej metody z wykorzystaniem monowarstwy 2D, znacząco podniosło wartość wykonanej pracy. Doktorantka udowodniła, że opracowany przez nią system ma charakter dość uniwersalny i może być obiecującym układem służącym do ukierunkowanego dostarczania leków różnego typu, zapobiegając ich działaniom ubocznym. W tym miejscu chciałabym, aby doktorantka wypowiedziała się, jakie jest jej zdanie co do możliwości i sensu szerszego zastosowania opracowanego przez nią układu do dostarczania innego typu leków, np. krótkich kwasów nukleinowych. Czy widzi Pani przewagę stosowania magnetoliposomów nad innymi niewirusowymi nośnikami leków i genów?

W mojej opinii uzyskane przez doktorantkę wyniki stanowią bardzo cenne uzupełnienie i rozwinięcie istniejących badań nanomateriałów. Budzą zaufanie, bo zostały uzyskane w konfrontacji z wynikami badań naukowców zajmujących się tą tematyką, pod okiem Promotorów o dużym dorobku naukowym w tej dziedzinie. Sądzę, że praca zawiera jeszcze

wiele wyników, które powinny zostać opublikowane, powiększając dorobek publikacyjny doktorantki.

Praca jest dobrze napisana, bogato i przejrzysto ilustrowana rycinami przedstawiającymi uzyskane wyniki, ale zawiera sporo lapsusów językowych, literówek, niepoprawnych odmian wyrazów, itp. szczególnie w drugiej części rozprawy. Rysunek 53 wymaga poprawienia podpisu, bo pokazuje dane dla mitoksantronu a nie doksorubicyny. Sugeruję też, aby skrót PBS rozwijać jako „zbuforowana sól fizjologiczna” a nie „bufor fosforanowy”.

Podsumowując uważam, że praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom naukowym na stopień naukowy doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne, zwracam się więc do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Warszawskiej z prośbą o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr inż. Edyty Maroń do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie w pełni doceniając nowatorskie osiągnięcia Doktorantki, jakość i wartość naukową wykonanych prac oraz profesjonalizm opracowania rozprawy, wnioskuję o wyróżnienie jej stosowną nagrodą.