

OCENA

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Małgorzaty Cyzy Zatytułowanej: „Właściwości spektroskopowe i fotochemiczne nowych sensybilizatorów dla potrzeb terapii fotodynamicznej”

Promotor pracy: prof. dr hab. Maria Nowakowska

Przedmiot i zakres pracy

Recenzowana praca doktorska jest poświęcona ocenie zdolności fotosensybilizacyjnej wybranych ftalocyjanin oraz badaniom ich właściwości, istotnych z punktu widzenia zastosowania tych fotouczulaczy w terapii fotodynamicznej.

Recenzowana praca doktorska pani mgr inż. Małgorzaty Cyzy ma charakter doświadczalny. Rozprawa jest obszerna, zawiera 215 stron. Całość rozprawy jest podzielona tradycyjnie na część teoretyczną i część doświadczalną. W części literaturowej autorka zawiera istotne wprowadzenie do tematyki pracy tj. przybliży czytelnikowi biochemiczne podstawy fotodynamicznej terapii – PDT oraz rolę fotosensybilizatora w całej strategii fotodynamicznej terapii, co z dużym przybliżeniem przedstawiam. Odpowiednio dobrany fotosensybilizator/fotouczulacz jest wprowadzany do organizmu, wnikając do wszystkich komórek; wycieka ze zdrowych komórek samoistnie po kilkunastu godzinach ale w komórkach nowotworowych pozostaje nawet do kilku dni. Wzbudzony światłem fotouczulacz na skutek wewnątrzcząsteczkowych przejść energetycznych i międzycząsteczkowych oddziaływań z tlenem generuje tlen singletowy, który dzięki dużej reaktywności niszczy komórki chore. Autorka rozprawy przedstawia bogatą charakterystykę procesów dezaktywacji wzbudzonych fotosensybilizatorów ftalocyjaninowych i subftalocyjaninowych, które stanowią przedmiot jej badań. Wybrane cztery ftalocyjaninowe fotosensybilizatory były zsyntetyzowane przez zespół dr Łukasza Łąpoka, z którym doktorantka ściśle współpracowała. Współpraca ta zapewniła odpowiednią czystość produktu syntezy, co jest

niezmiernie ważne zarówno w badaniach właściwości fotofizycznych i fotochemicznych, ale także istotne jest dla terapii fotodynamicznej. Uzyskano specyficzne związki zawierające struktury ftalocyjanin i subftalocyjanin charakteryzujące się stosunkowo długim czasem życia stanu trypletowego, co ma duży wpływ na wydajność generowania tlenu singletowego, który w strategii terapeutycznej odpowiada za wydajność i działanie kuracji wyniszczającej komórki chore.

Recenzowana praca doktorska przedstawia kompletne badania właściwości fotofizycznych i fotochemicznych badanych sensybilizatorów ftalocyjaninowych w rozpuszczalnikach organicznych (ze względu na ich hydrofobowość). Następnie przeprowadzono badania zdolności tych związków do przenikania do błony lipidowej, tak aby w jej otoczeniu w efektywny sposób dostarczyć fotosensybilizatory do tkanki nowotworowej. Określono parametry termodynamiczne procesu wnikania badanych związków do modelowych dla układów biologicznych, membran lipidowych.

Zasadniczym tematem recenzowanej pracy doktorskiej są właściwości spektroskopowe i fotochemiczne badanych sensybilizatorów. Doktorantka robi to bardzo rzetelnie, wykonuje badania wydajności kwantowych dla badanych fotosensybilizatorów ftalocyjaninowych w kilku rozpuszczalnikach, eksperymentalnie analizując wpływ otoczenia sensybilizatorów na ich wydajności kwantowe. Autorka poświęca dużo uwagi, w swoich badaniach literaturowych i eksperymentalnych, wpływowi rodzaju skompleksowanego z molekułą sensybilizatora jonu metalu, jego rodzaju, rozmiaru podstawnika na wydajności kwantowe oraz na czas życia fluorescencji, mając świadomość, że krótkie czasy życia fluorescencji świadczą o zwiększonym prawdopodobieństwie bezradiacyjnego, międzysystemowego przejścia singlet – tryplet i związany z tym wzrost prawdopodobieństwa generacji tlenu singletowego orazinnych reaktywnych form tlenu.

Następnie dużo uwagi poświęcono badaniom wydajności kwantowej generowania tlenu singletowego przez wybrane sensybilizatory ftalocyjaninowe. Zastosowano dwie drogi: metodę wygaszania chemicznego z użyciem metody porównawczej oraz metodę bezpośrednią, tj. detekcji fosforescencji przy długości fali 1270 nm. Dokonano także oceny fotostabilności będących przedmiotem badań fotosensybilizatorów ftalocyjaninowych. Wykonano bardzo systematyczne badania procesów fotodegradacji zarówno w atmosferze tlenu jak i dla porównania w atmosferze gazu obojętnego, w argonie. Badania te, ważne z punktu widzenia zastosowania związków w terapii fotodynamicznej wykazały, że stabilność omawianych sensybilizatorów nie odbiega od przedstawionych w literaturze danych dotyczących innych, podobnych uczulaczy ftalocyjaninowych. Są to mało stabilne związki

chemiczne i szybko ulegają fotodegradacji. Jest to dobra cecha, bowiem można się spodziewać, że małe struktury produktów fotodegradacji będą szybko wydalane z organizmu pacjenta. Dodatkowo, badania produktów fotodegradacji potwierdzają obecność mało-toksycznych substancji, co sygnalizowano w literaturze poświęconej badaniom nad podobnymi związkami chemicznymi.

Wśród innych uzupełniających badań wybranych uczulaczy ftalocyjaninowych wykonano badania nad oddziaływaniami cząsteczek uczulaczy z błonami lipidowymi, które w terapii fotodynamicznej odgrywają rolę nośników. Jest to ważne ze względu na fakt, iż substancje te są hydrofobowe i w zasadzie nie są rozpuszczalne w wodzie. Enkapsulacja fotosensybilizatorów w liposomach wpływa pozytywnie na transport leku w materiale biologicznym i na właściwości farmakokinetyczne. Wykonano badania przyłączenia fotosensybilizatorów do błony liposomowej i określono stałe przyłączania, z użyciem spektroskopii fluorescencyjnej. Wykonano ciekawe badania nad wpływem modyfikacji błony liposomowej z użyciem poliglikolu etylenowego. Jest to na tyle istotne, że przedłużona cyrkulacja fotosensybilizatora w materiale biologicznym powoduje wzrost prawdopodobieństwa dotarcia fotosensybilizatora do komórek chorych.

Wszystkie badania wykonano na Uniwersytecie Jagiellońskim, głównie w Zespole Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów kierowanym przez panią prof. dr hab. Marię Nowakowską.

Badania były częściowo finansowane przez dwa granty Narodowego Centrum Nauki (NCN).

Ocena merytoryczna rozprawy

Podjęty temat rozprawy jest interdyscyplinarny. Dotyczy badania właściwości spektroskopowych i fotochemicznych nowych fotosensybilizatorów ftalocyjaninowych dla terapii fotodynamicznej. Wynika z powyższego, że chodzi o fotosensybilizatory spełniające pewne wymagania i ograniczenia podyktowane przez procedurę PDT. Temat jest ważny z uwagi na potencjalne możliwości wykorzystania wyników przez badawcze ośrodki medyczne. Ciągłe poszukuje się bardziej efektywnych terapii fotodynamicznych. Poszukiwanie nowych metod leczenia czy uzyskanie sensybilizatorów o lepszych parametrach daje nadzieję na bardziej wydajną terapię a co ważne ograniczenie efektów ubocznych w stosowanych obecnie w dużym procencie metodach leczenia raka, które często są oparte na inwazyjnym, chirurgicznym usuwaniu tkanek chorych, i są często połączone z radioterapią i chemioterapią.

Za podstawowe oryginalne osiągnięcia zawarte w przedstawionej rozprawie doktorskiej uważam:

- Dojrzałą analizę literaturową poprzedzającą prace eksperymentalne, w tym omówienie metody fotodynamicznej terapii pozwalające na sformułowanie wymagań i ograniczeń dla stosowanych fotosensybilizatorów.
- Rzetelne badania spektroskopowe, ich dokładna analiza wraz z dyskusją możliwych dwu mechanizmów dezaktywacji energii wzbudzenia fotosensybilizatorów, które prowadzą do generowania tlenu singletowego oraz innych reaktywnych form tlenu. Dyskusję zależności prawdopodobieństwa zajścia mechanizmu dającego wzrost generacji tlenu singletowego istotnego dla FDT od wielu czynników ale co ważne, od struktury chemicznej fotosensybilizatora.
- Ciekawą analizę efektów spektroskopowych uzależnionych od rodzaju podstawienia fotosensybilizatora, prowadzących do zróżnicowania mechanizmów generowania tlenu singletowego; wynikających z oddziaływań otoczenia na molekułę fotosensybilizatora jednocześnie kształtujących jego właściwości i parametry.
- Rzetelną i dojrzałą interpretację i dyskusję wyników badań na każdym ich etapie.
- Duży zbiór literatury, która obejmuje ponad 200 pozycji, do których autorka często się odwołuje w tekście rozprawy; świadczy to o wnikliwości autorki i właściwej drodze poznawczej tematyki badań.

Niezależnie od wysokiej oceny recenzowanej pracy następujące uwagi, dotyczące niedopatrzeń, mogą mieć znaczenie dla dalszego rozwoju doktorantki jak i upowszechniania badań:

- s. 70, Rozdz.1.2.1.1. napisano: „ produkt otrzymano z bardzo dobrą czystością” – ważne w tym miejscu byłoby określenie, jakie stosowano kryteria oceny czystości?
- Tytuł rozdziału 2. „Wydajność kwantowa fluorescencji badanych połączeń” - robi wrażenie bardzo niezręcznie sformułowanego tytułu.
- Rozdział 3.3. W jaki sposób wybierano analityczną długość fali np. dla danych przedstawionych na rysunkach 44 – 49. Czy korelowano z kształtem widma, czy też była to wielkość zaczerpnięta z literatury?

Wniosek końcowy

Podsumowując, autorka rozprawy wykazała się dużą znajomością tematu, wykonała wielowątkową pracę doświadczalną.

Opracowanie wyników w formie rozprawy wskazuje na dojrzałość badawczą autorki, dużą wiedzę w zakresie prezentowanego tematu, umiejętność realizacji badań i analizy ich wyników oraz wyciągania wniosków na ich podstawie. Autorka wykazała się dużą dociekliwością badawczą. Dorobek autorki, mgr inż. Małgorzaty Cyzy posiada elementy nowości naukowych.

Analizując stronę formalną pracy uważam, że zarówno układ pracy, wraz z rozwinięciem części literaturowej, bogatą i usystematyzowaną częścią eksperymentalną, są przedstawione bardzo przejrzysto. Praca jest napisana poprawnie stylistycznie, posiada bardzo dobrą szatę graficzną.

Biorąc pod uwagę całokształt prezentowanego materiału stwierdzam, że praca spełnia wszelkie wymogi określone w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytułach naukowych, i w związku z tym rekomenduję tę pracę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

B. Wandelt