

dr hab. n. med. Marta Opalińska
Katedra i Kliniki Endokrynologii
Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Kraków, 15.09.2025 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Emilii Teresy Majki pt.:
„Pegylowane nanocząstki złota pokryte radionuklidami $^{197}\text{m}/^{197}\text{Hg}$ - nowe
podejście do terapii elektronami Auger potrójnie ujemnego nowotworu
piersi i glejaka wielopostaciowego”

przygotowanej pod kierunkiem promotora –
dr hab. inż. Agnieszki Majkowskiej-Pilip, prof. IChTJ,
w Szkole Doktorskiej
Narodowego Centrum Badań Jądrowych oraz Instytutu Chemii i Techniki
Jądrowej
Centrum Radiochemii i Chemii Jądrowej, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej

Recenzja została sporządzona na podstawie art. 189 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 737, t.j.) oraz § 12 ust. 1 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 lutego 2019 r. w sprawie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora, doktora habilitowanego i profesora (Dz.U. z 2019 r. poz. 392 ze zm.).

Przedstawiona do recenzji praca koncentruje się na opracowaniu metod syntezy, charakterystyki oraz oceny przeciwnowotworowego działania koniugatów nanocząstek złota z izotopami rtęci i złota, zaprojektowanych z myślą o zastosowaniu w nowoczesnych terapiach przeciwnowotworowych, w szczególności w nanobrachyterapii. Zastosowanie tych związków w leczeniu nowotworów trudnych terapeutycznie, takich jak potrójnie ujemny rak piersi (TNBC) oraz glejak wielopostaciowy (GBM), stanowi innowacyjną i oryginalną próbę rozwiązania istotnego klinicznie problemu naukowego. Na uznanie zasługuje interdyscyplinarne podejście do zagadnienia, łączące wykorzystanie nanocząstek jako

nośników radioizotopów w celowanej terapii nowotworów. Szczególnie cenne w tym kontekście jest podjęcie próby zastosowania emiterów elektronów Augera, które budzą coraz większe nadzieje w klinicznej medycynie nuklearnej i mogą przyczynić się do zwiększenia efektywności terapii.

Główny cel pracy zaplanowany przez Doktorantkę jest jasno i logicznie sformułowany, obejmuje zbadanie właściwości fizykochemicznych oraz działania przeciwnowotworowego koniugatów opartych na nanocząstkach złota, wykorzystanych jako nośników emiterów elektronów Augera dla radionuklidów ^{197m}Hg , ^{197}Hg i ^{198}Au oraz określenie ich potencjału terapeutycznego *in vitro* na liniach komórkowych potrójnie ujemnego raka piersi (MDA-MB-231) oraz glejaka wielopostaciowego (T98G) oraz *ex* i *in vivo* na modelu myszy z guzami indukowanymi komórkami nowotworowymi linii 4T1 (mysiego raka piersi). Zaplanowane przez Doktorantkę wykorzystanie dodatkowego efektu elektronów Augera w trakcie nanobrachyterapii powinno końcowo prowadzić do opracowania narzędzia terapeutycznego cechującego się silnym efektem cytotoksycznym przy jednoczesnym ograniczeniu toksyczności dla otaczających tkanek.

Metody badawcze nie budzą zastrzeżeń. W ramach pracy zsyntezowano i przebadano: nieradioaktywny $\text{Au(Hg)NPs-PEG-COOH}$ oraz radioaktywne $\text{Au}(^{197m}/^{197}\text{Hg})\text{NPs-PEG-COOH}$ i $\text{Au}(^{198}/^{197}\text{Hg})\text{NPs-PEG-COOH}$. Nanocząstki były otrzymywane metodą Turkevicha, a do ich syntezy wykorzystano zarówno chlorek złota (dla AuNPs), jak i jego napromieniony odpowiednik (dla $^{198}\text{AuNPs}$). Wyniki pomiarów zostały przedstawione rzetelnie i w sposób jasny. Praca zawiera bardzo szeroką i rzetelną charakterystykę fizykochemiczną otrzymanych nanostruktur, obejmującą techniki TEM, DLS, Zeta Potential, FTIR oraz TGA. W celu uniknięcia skażenia aparatury pomiarowej, szczegółowa charakterystyka została wykonana dla nieradioaktywnego koniugatu $\text{Au(Hg)NPs-PEG-COOH}$, który następnie traktowano jako modelowy odpowiednik koniugatów radioaktywnych. Wyniki pomiarów wykazały fizyczną średnicę nanocząstek $6,14 \pm 0,47$ nm (TEM), hydrodynamiczną $13,94 \pm 0,86$ nm (DLS) oraz potencjał zeta $-24,63 \pm 2,31$ mV, świadczący o ich stabilności koloidalnej. Potwierdzono pełną funkcjonalizację powierzchni (FTIR, TGA) i wysokie stężenie ($4,10 \times 10^{13}$ AuNPs/ml). Opracowano optymalny stosunek AuNPs:PEG (1:50), zapewniający maksymalną stabilność. Przebadano trzy metody produkcji radionuklidów rtęci: dwie cyklotronowe i jedną reaktorową. Najlepsze wyniki uzyskano metodą reaktorową (reakcja $^{196}\text{Hg}(n,\gamma)$), osiągając wysoką aktywność właściwą ($5,99$ TBq/mg). Znakowanie nanocząstek przebiegało z blisko 100% wydajnością w <15 min, a stabilność zapewniał PEG przy stosunku

≤500:1. Przeprowadzono ocenę stabilności i cytotoksyczności w liniach T98G i MDA-MB-231. Dla nieradioaktywnego koniugatu ustalono nietoksyczne stężenie rtęci (<6 µg/ml); dominowała późna apoptoza bez istotnej nekrozy. Radioaktywne koniugaty wykazywały silny efekt cytotoksyczny – Au(197m/197Hg)NPs-PEG-COOH znacząco obniżał aktywność metaboliczną komórek, szczególnie MDA-MB-231, z wysoką internalizacją (do 91%) i uszkodzeniami DNA (γ-H2AX). W tej linii obserwowano całkowity rozpad sferoidów. W T98G efekt był słabszy, co sugeruje większą oporność. Badania biodostępności wykazały akumulację głównie w wątrobie, nerkach i płucach. Akumulacja w guzie po dożylnym podaniu była niska ($3,11 \pm 0,62$ %IA/g), natomiast po bezpośrednim wstrzyknięciu – bardzo wysoka (134 %IA/g), zgodna z założeniami nanobrachyterapii. Eliminacja następowała przez nerki. Efektywność terapeutyczna potwierdziła zahamowanie wzrostu guza (32–35%) przy aktywności 10 MBq; przy 25 MBq wystąpiły działania toksyczne, co wskazuje na konieczność dalszej optymalizacji.

Dyskusja jest napisana w sposób wyważony, prezentuje wysoki poziom naukowy, podkreśla najważniejsze uzyskane wyniki w kontekście prac innych autorów i potwierdza bardzo dobre przygotowanie autorki w zakresie wiedzy teoretycznej dotyczącej nowoczesnych technologii radiofarmaceutycznych, biologii molekularnej i nanomedycyny.

W całości rozprawa jest napisana starannie, poprawnym językiem naukowym, zgodnym z konwencją prac z zakresu nauk ścisłych i biomedycznych. Struktura pracy jest logiczna, a wnioski wyciągnięte na podstawie uzyskanych danych uzasadnione. Jedyne możliwe zastrzeżenie (o charakterze marginalnym) może dotyczyć ograniczonej ilości danych *in vivo* dla radiokoniugatu zawierającego ¹⁹⁸Au – jednak Doktorantka szczegółowo omawia ten temat w treści rozprawy.

Przedstawiony w rozprawie przegląd danych literaturowych dowodzi szerokiej wiedzy Doktorantki dotyczącej technik opracowania radiofarmacutyków stosowanych zarówno w terapiach ligandowych jak i nanobrachyterapii.

Należy podkreślić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska w pełni wpisuje się w aktualne trendy badań. Cele poszczególnych etapów pracy zostały jasno sformułowane, metodyka badań jest nowoczesna i nie budzi zastrzeżeń. Otrzymane przez Doktorantkę wyniki powinny znaleźć odzwierciedlenie w dalszym planowaniu badań, które pozwolą na optymalizację terapii radionuklidami w różnych chorobach nowotworowych, także tych dla

których znalezienie celu molekularnego jest trudne, a wyjściowo związanych z niekorzystnym rokowaniem.

Warta podkreślenia jest też, przebijająca się z przedstawionej rozprawy doktorskiej, umiejętność mgr inż. Emilii Teresy Majki prowadzenia samodzielnej zaawansowanej merytorycznie i technicznie pracy naukowej, także w środowisku międzynarodowym.

Podsumowując uważam, że recenzowana praca doktorska mgr inż. Emilii Teresy Majki pt.: „Pegylowane nanocząstki złota pokryte radionuklidami $^{197m}\text{Au}/^{197}\text{Hg}$ - nowe podejście do terapii elektronami Auger potrójnie ujemnego nowotworu piersi i glejaka wielopostaciowego” stanowi oryginalny, nowatorski dorobek naukowy. Praca ma charakter translacyjny o potencjalnym istotnym znaczeniu klinicznym.

Na podstawie analizy przedstawionej rozprawy doktorskiej, stwierdzam, że uzyskane wyniki oraz ich interpretacja w pełni odpowiada warunkom określonym w ustawie stopniach naukowych i mając na uwadze powyższe przedkładam Radzie Naukowej Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr inż. Emilii Teresy Majki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk ścisłych i przyrodniczych.

Marta Opelińska

dr hab. n. med. Marta Opalińska
Katedra i Kliniki Endokrynologii
Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Kraków, 15.09.2025 r.

Uzasadnienie przyznania wyróżnienia rozprawie doktorskiej

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Emilii Teresy Majki, zatytułowana: „Pegylowane nanocząstki złota pokryte radionuklidami $^{197}\text{m}/^{197}\text{Hg}$ - nowe podejście do terapii elektronami Auger potrójnie ujemnego nowotworu piersi i glejaka wielopostaciowego” przygotowana pod kierunkiem promotora dr hab. inż. Agnieszki Majkowskiej-Pilip, prof. IChTJ, w Szkole Doktorskiej NCBJ oraz ICHTJ (Centrum Radiochemii i Chemii Jądrowej) dotyczy innowacyjnego zastosowania radionuklidów rtęci oraz nanocząstek złota w nanobrachyterapii nowotworów pozbawionych specyficznej ekspresji receptorów, takich jak potrójnie ujemny rak piersi oraz glejak wielopostaciowy.

Rozprawa w pełni spełnia wszystkie kryteria stawiane przed pracą doktorską, a jej poziom merytoryczny, innowacyjność oraz potencjał aplikacyjny zdecydowanie przekraczają standardowe wymagania.

Na szczególne uznanie zasługuje nowatorskie podejście terapeutyczne, w ramach którego Doktorantka opracowała kompleksowy system radiofarmaceutyczny oparty na koniugatach nanocząstek złota z radionuklidami rtęci (^{197}mHg i ^{197}Hg), dedykowany terapii nowotworów często opornych na leczenie konwencjonalne.

Praca opiera się na koncepcji nanobrachyterapii z użyciem emiterów elektronów Augera, co pozwala na skuteczne działanie terapeutyczne niezależnie od ekspresji receptorów nowotworowych. Zastosowane podejście czyni opracowaną metodę potencjalnie uniwersalną w leczeniu onkologicznym. Rozprawa ma wyraźnie interdyscyplinarny charakter, obejmuje syntezę związków, ich pełną charakterystykę fizykochemiczną oraz badania biologiczne *in vitro* i *in vivo*. Przedstawione wyniki eksperymentalne, uzyskane samodzielnie przez Doktorantkę, są oryginalne, wiarygodne i mają znaczący potencjał translacyjny.

Podsumowując, rozprawa reprezentuje bardzo wysoki poziom naukowy i stanowi istotny wkład w rozwój medycyny nuklearnej oraz nowoczesnych metod terapii nowotworów. Z pełnym przekonaniem rekomenduję przyznanie jej wyróżnienia.

Marta Opalińska