

dr Bożena Sikora-Dobrowolska
Instytut Fizyki PAN

AUTOREFERAT

***„Zaprojektowanie, wytwarzanie i charakteryzacja wielofunkcyjnych
nanocząstek opto-magnetycznych o ulepszonych właściwościach
fizykochemicznych w kontekście ich potencjalnych zastosowań biologicznych i
medycznych”***

***„Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a
strukturami biologicznymi (komórki i tkanki)”***

Warszawa 2024

Spis Treści

1. DANE OSOBOWE	2
2. INFORMACJE O POSIADANYCH DYPLOMACH I UZYSKANYCH STOPNIACH NAUKOWYCH	2
3. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH 2	
4. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT. 2 USTAWY Z DNIA 20 LIPCA 2018 R. PRAWO O SZKOLNICTWIE WYŻSZYM I NAUCE (DZ. U. Z 2021 R. POZ. 478 Z PÓŹN. ZM.).	3
4.1. TYTUŁ PIERWSZEGO OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO	3
4.2. TYTUŁ DRUGIEGO OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO	4
4.3. OŚWIADCZENIE O UDZIALE INDYWIDUALNYM W POWSTANIE PUBLIKACJI SKŁADAJĄCYCH SIĘ NA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE	4
4.4. OMÓWIENIE PIERWSZEGO OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO	7
4.5. OMÓWIENIE DRUGIEGO OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO	23
5. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.	31
5.1. UNIWERSYTET WARSZAWSKI, WYDZIAŁ CHEMII.....	31
5.2. ECOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE (EPFL), LABORATORY OF PHYSICS OF COMPLEX MATTER (LPMC), INSTITUTE OF CONDENSED MATTER PHYSICS (ICMP), FACULTY OF BASIC SCIENCES (FBS), LAUSANNE, SZWAJCARIA.....	31
5.3. INSTITUTO DE FISICA, NFFLCLEO DE FSICA APLICADA UNIVERSIDADE DE BRASILIA, ORAZ DEPTO DE GENÉTICA E MORFOLOGIA CNANO - INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA	32
5.4. UNIWERSYTET WARSZAWSKI, WYDZIAŁ FIZYKI.....	33
5.5. POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ FIZYKI.....	34
5.6. WYŻSZA SZKOŁA INŻYNIERII I ZDROWIA	35
6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ.	36
6.1. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA	36
6.2. DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA	38
6.3. DZIAŁALNOŚĆ POPULARYZATORSKA.....	38
7. POZOSTAŁE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWO-BADAWCZE	39
7.1. WYKAZ PUBLIKACJI NIEWCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	39
7.2. WYKAZ PATENTÓW NIEWCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	41
7.3. RECENZJE PRAC NAUKOWYCH.....	41
7.4. GRANTY	41
7.5. STAŻE ZAGRANICZNE	42
7.6. WYKŁADY ZAPROSZONE.....	43
7.7. USTNE KOMUNIKATY KONFERENCYJNE.....	44
7.8. CERTYFIKATY	46
7.9. NAGRODY	46
SPIS CYTOWANEJ LITERATURY	47

Autoreferat

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko Bożena Sikora-Dobrowolska
Dane kontaktowe Instytut Fizyki Polskiej Akademii Nauk
Al. Lotników 32/46,
02-668 Warszawa, Polska
e-mail: sikorab@ifpan.edu.pl
tel: +48 785 549 062

2. Informacje o posiadanych dyplomach i uzyskanych stopniach naukowych

2014	Stopień doktora nauk fizycznych Rozprawa doktorska <i>"Zaprojektowanie i scharakteryzowanie biosensorów opartych na koloidalnych nanocząstkach do zastosowań w biologii i medycynie"</i> Podmiot nadający stopień: Rada Naukowa Instytutu Fizyki PAN Promotor: prof. Danek Elbaum Praca obroniona z wyróżnieniem
2012	Dyplom ukończenia studiów podyplomowych z prawa dowodowego, kryminalistyki oraz nauk pokrewnych nadany przez Centrum Nauk Sądowych Uniwersytetu Warszawskiego
2008	Stopień magistra chemii Praca magisterska <i>„Badanie aktywności antyoksydacyjnej wybranych neuroprzekazników”</i> Podmiot nadający stopień: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego Promotor: prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2014 - obecnie	Adiunkt w Środowiskowym Laboratorium Fizyki Biologicznej w Instytucie Fizyki, Polskiej Akademii Nauk (forma zatrudnienia: umowa o pracę)
2017 - obecnie	Wykładowca w Wyższej Szkole Inżynierii i Zdrowia w Warszawie (forma zatrudnienia: umowa zlecenie)
2008 - 2014	Doktorant w Środowiskowym Laboratorium Fizyki Biologicznej w Instytucie Fizyki, Polskiej Akademii Nauk

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

4.1. Tytuł pierwszego osiągnięcia naukowego

„Zaprojektowanie, wytwarzanie i charakteryzacja wielofunkcyjnych nanocząstek opto-magnetycznych o ulepszonych właściwościach fizykochemicznych w kontekście ich potencjalnych zastosowań biologicznych i medycznych”

Cykl publikacji składających się na pierwsze osiągnięcie naukowe

Lp.	Autorzy, tytuł publikacji, czasopismo, rok wydania, tom, strony	Impact Factor ¹	Liczba Cytowań ²
A1	A. Borodziuk*, P. Kowalik, M. Duda, T. Wojciechowski, R. Minikayev, D. Kalinowska, M. Klepka, K. Sobczak, Ł. Kłopotowski, B. Sikora* „ <i>Unmodified Rose Bengal photosensitizer conjugated with NaYF₄:Yb,Er upconverting nanoparticles for efficient photodynamic therapy</i> ” Nanotechnology 2020, 31, 465101	3.874	20
A2	P. Kowalik*, D. Elbaum, J. Mikulski, K. Fronc, I. Kamińska, P. C. Morais, P. E. de Souza, R. B. Nunes, F. H. Veiga-Souza, G. Gruzel, R. Minikayev, T. Wojciechowski, E. Mosiniewicz-Szablewska, M. Szewczyk, M. Pawlyta, A. Sienkiewicz, M. Łapiński, K. Zajdel, P. Stępień, J. Szczepkowski, W. Jastrzębski, M. Frontczak-Baniewicz, W. Paszkowicz, B. Sikora „ <i>Upconversion fluorescence imaging of HeLa cells using ROS generating SiO₂-coated lanthanide-doped NaYF₄ nanoconstructs</i> ” RSC Adv 2017, 7, 30262-30273	2.936	27
A3	P. Kowalik*, I. Kamińska, K. Fronc, A. Borodziuk, M. Duda, T. Wojciechowski, K. Sobczak, D. Kalinowska, M. T. Klepka, B. Sikora* „ <i>The ROS-generating photosensitizer - free NaYF₄:Yb,Tm@SiO₂ upconverting nanoparticles for photodynamic therapy application</i> ” Nanotechnology 2021, 32, 475101	3.953	10
A4	P. Kowalik, J. Mikulski, A. Borodziuk, M. Duda, I. Kamińska, K. Zajdel, J. Rybusinski, J. Szczytko, T. Wojciechowski, K. Sobczak, R. Minikayev, M. Kulpa-Greszta, R. Pazik, P. Grzackowska, K. Fronc, M. Lapinski, M. Frontczak-Baniewicz, B. Sikora* „ <i>Yttrium-Doped Iron Oxide Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Applications</i> ” J Phys Chem C 2020, 124, 12, 6871-6883	4.126	40
A5	B. Sikora-Dobrowolska* , A. Borodziuk, M. Kulpa-Greszta, R. Pazik, T. Wojciechowski, K. Sobczak, J. Rybusinski, J. Szczytko, L. Kłopotowski „ <i>Opto-magnetic nanoparticles with upconverting properties for optical imaging and photothermal therapies</i> ” J Magn Mag Mater 2024, 591, 171714	2.700	0

*autor korespondencyjny

¹zgodnie z rokiem publikacji

²wg Web of Science z dnia 16.04.2024

4.2. Tytuł drugiego osiągnięcia naukowego

„Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a strukturami biologicznymi (komórki i tkanki)”

Cykl publikacji składających się na drugie osiągnięcie naukowe

Lp.	Autorzy, tytuł publikacji, czasopismo, rok wydania, tom, strony	Impact Factor ¹	Liczba Cytowań ²
B1	B. Sikora* , P. Kowalik, J. Mikulski, K. Fronc, I. Kamińska, M. Szewczyk, A. Konopka, K. Zajdel, R. Minikayev, K. Sobczak, W. Zaleszczyk, A. Borodziuk, J. Rybusiński, J. Szczytko, A. Sienkiewicz, T. Wojciechowski, P. Stępień, M. Frontczak-Baniewicz, M. Łapiński, G. Wilczyński, W. Paszkowicz, A. Twardowski, D. Elbaum „Mammalian cell defence mechanisms against the cytotoxicity of NaYF ₄ :(Er,Yb,Gd) nanoparticles” Nanoscale 2017, 9, 14259-14271	7.233	17
B2	K. Zajdel*, D. Bartczak, M. Frontczak-Baniewicz, D. A. Ramsay, P. Kowalik, K. Sobczak, I. Kamińska, T. Wojciechowski, R. Minikayev, H. Goenaga-Infante, B. Sikora* „Nano-bio interactions of upconversion nanoparticles at subcellular level: biodistribution and cytotoxicity” Nanomedicine 2023, 18(3), 233-258	5.500	1
B3	K. Zajdel*, J. Janowska, M. Frontczak-Baniewicz, J. Sypecka, B. Sikora* „Upconverting Nanoparticles as a New Bio-Imaging Strategy—Investigating Intracellular Trafficking of Endogenous Processes in Neural Tissue” Int J Mol Sci 2023, 24(2), 1122	6.208	3

*autor korespondencyjny

¹zgodnie z rokiem publikacji

²wg Web of Science z dnia 16.04.2024

Dodatkowe dane:

ResearcherID S-7493-2016

ORCID 0000-0001-5902-9682

Liczba publikacji indeksowanych w Web of Science 26

Liczba wszystkich cytowań (bez autocytowań)* 339 (299)

Indeks Hirscha* 12

* dane wg portalu Web of Science, stan z dnia 16.04.2024

4.3. Oświadczenie o udziale indywidualnym w powstanie publikacji składających się na osiągnięcia naukowe

Praca [A1] – Mój wkład w powstanie pracy polegał na zaplanowaniu i kierowaniu prowadzonymi badaniami. Koordynowałam pracę zespołu podczas prowadzenia zadań badawczych. Przedstawiłam problemy badawcze, koncepcje pracy, a także zdobyłam fundusze na przeprowadzone badania (prace zostały wykonane w ramach projektu SONATA, którego byłam kierownikiem). Wytworzyłam koncepcję modyfikacji powierzchniowej nanocząstek za

pomocą fotouczulacza Rózu Bengalskiego (bez dodatku kwasu heksanowego), w celu zwiększenia wydajności transferu energii między nimi, oraz detekcji reaktywnych form tlenu z tak utworzonego nanokonstruktu. Brałam udział w eksperymentach komórkowych, ich planowaniu, przygotowaniu oraz interpretacji. Wykonałam pomiary komórek za pomocą mikroskopii konfokalnej. Brałam udział w analizie i interpretacji wszystkich otrzymanych w ramach tej pracy wyników. Uczestniczyłam w przygotowaniu szkicu i finalnej wersji artykułu. Praca stanowiła część doktoratu, którego byłam promotorem pomocniczym.

Praca [A2] – Mój wkład w powstanie pracy polegał na zaplanowaniu i kierowaniu prowadzonymi badaniami. Koordynowałam pracę zespołu podczas prowadzenia zadań badawczych. Przedstawiłam problemy badawcze, koncepcje pracy, a także zdobyłam fundusze na przeprowadzone badania (prace zostały wykonane w ramach projektu SONATA, którego byłam kierownikiem). Byłam odpowiedzialna za koncepcję wytwarzania reaktywnych form tlenu przez nanocząstki konwertujące w górę promieniowanie 980 nm do światła UV i niebieskiego (bez udziału fotouczulacza, ani innych dodatków powierzchniowych). Brałam udział w opracowaniu syntezy otrzymywanych nanostruktur oraz ich modyfikacji a także opracowałam metody wprowadzania nanomateriałów do komórek HeLa. Brałam udział w pomiarach luminescencji nanocząstek, oraz opracowaniu metody pomiaru reaktywnych form tlenu generowanych z nanocząstek metodą Elektronowego Rezonansu Paramagnetycznego (EPR). Pomiary EPR wykonałam we współpracy z grupą prof. Prof. Paulo Eduardo Narcizo de Souza na Uniwersytecie w Brasili. Brałam udział w analizie i interpretacji wszystkich otrzymanych w ramach tej pracy wyników. Wykonałam pomiary mikroskopii konfokalnej komórek HeLa. Przygotowałam szkic i finalną wersję artykułu.

Praca [A3] – Mój wkład w powstanie pracy polegał na zaplanowaniu i kierowaniu prowadzonymi badaniami. Koordynowałam pracę zespołu podczas prowadzenia zadań badawczych. Przedstawiłam problemy badawcze, koncepcje pracy, a także zdobyłam fundusze na przeprowadzone badania (prace zostały wykonane w ramach projektu SONATA, którego byłam kierownikiem). Brałam udział w opracowaniu metody pomiaru stopnia przeżywalności komórek nowotworowych 4T1 pod wpływem nanocząstek konwertujących energię w górę i generowanych z nich reaktywnych form tlenu pod wpływem promieniowania NIR (bez udziału fotouczulaczy na powierzchni nanocząstek). Opracowałam metodę funkcjonalizacji i biofunkcjonalizacji nanocząstek oraz metodę ich charakteryzacji. Wykonałam pomiary mikroskopii konfokalnej komórek 4T1 z nanocząstkami. Brałam udział w analizie i interpretacji wszystkich otrzymanych w ramach tej pracy wyników. Przygotowałam szkic i finalną wersję artykułu.

Praca [A4] – Mój wkład w powstanie pracy polegał na zaplanowaniu i kierowaniu prowadzonymi badaniami. Koordynowałam pracę zespołu podczas prowadzenia zadań badawczych. Przedstawiłam problemy badawcze, koncepcje pracy, a także zdobyłam fundusze na przeprowadzone badania (prace zostały wykonane w ramach projektu SONATA, którego byłam kierownikiem). Byłam odpowiedzialna za koncepcje domieszkowania nanocząstek Fe_3O_4 różnymi ilościami jonów Y^{3+} . Uczestniczyłam w pomiarach hipertermii otrzymanych nanocząstek. Opracowałam koncepcję i plan eksperymentów hipertermii nanocząstek

wewnątrz komórek. Wykonałam analizę i interpretację otrzymanych w ramach niniejszej pracy wyników. Byłam autorem koncepcji wyjaśniającej wpływ domieszek Y^{3+} na magnetyzm nanocząstek. Przygotowałam szkic i finalną wersję artykułu.

Praca [A5] - Mój wkład w powstanie pracy polegał na zaplanowaniu i kierowaniu prowadzonymi badaniami. Koordynowałam pracę zespołu podczas prowadzenia zadań badawczych. Przedstawiłam problemy badawcze i koncepcje pracy. Opracowałam metodę przyłączenia nanocząstek optycznych i magnetycznych. Wykonałam analizę i interpretację otrzymanych w ramach niniejszej pracy wyników. Obliczyłam wartości specyficznego współczynnika absorpcji (ang. Specific Absorption Rate, SAR) i przeprowadziłam interpretację i porównanie wyników otrzymanych dla naświetlania nanocząstek laserami 808 nm i 880 nm. Przygotowałam szkic i finalną wersję artykułu.

Praca [B1] – Mój wkład w powstanie pracy polegał na zaplanowaniu i przeprowadzeniu większości badań i eksperymentów. Przedstawiłam problem badawczy, koncepcje pracy i zaplanowałam niezbędne do realizacji problemu badania. Wykonałam wszystkie syntezy nanomateriałów oraz ich charakterystykę luminescencyjną. Zaplanowałam wszystkie eksperymenty z udziałem komórek i wykonałam związane z nimi pomiary za pomocą mikroskopii konfokalnej. Jestem autorem metody kolokalizacji nanocząstek z organellami komórkowymi na podstawie widm luminescencji rejestrowanych w mikroskopie konfokalnym. Dokonałam analizy i interpretacji wyników otrzymanych w ramach niniejszej pracy. Zaproponowałam mechanizm internalizacji i wydalenia nanocząstek z zastosowaniem komórek Hela, HEK oraz astrocytów. Przygotowałam szkic i finalną wersję artykułu.

Praca [B2] – Mój wkład w powstanie pracy polegał na zaplanowaniu i kierowaniu prowadzonymi badaniami. Koordynowałam pracę zespołu podczas prowadzenia zadań badawczych. Przedstawiłam problemy badawcze oraz koncepcje pracy. Uczestniczyłam w analizie i interpretacji uzyskanych wyników. Udowodniłam mechanizm endocytozy zależnej od klatryny i kaweoli internalizacji nanocząstek przez komórki HeLa, który zaproponowałam we wcześniejszej pracy. Wykonałam pomiary mikroskopii konfokalnej próbek komórkowych. Brałam udział w analizie i interpretacji wszystkich otrzymanych w ramach tej pracy wyników. Uczestniczyłam w przygotowaniu szkicu i finalnej wersji artykułu. Wyniki były częścią pracy doktorskiej, której byłam promotorem pomocniczym.

Praca [B3] – Mój wkład w powstanie pracy polegał na zaplanowaniu części prowadzonych badań i ich koordynowaniu. Wykonałam pomiary mikroskopii konfokalnej próbek skrawków hipokampów. Udowodniłam mechanizm endocytozy za pośrednictwem klatryny i kaweoli przez komórki nerwowe znajdujące się w skrawkach hipokampa. Brałam udział w analizie i interpretacji wszystkich otrzymanych w ramach tej pracy wyników. Uczestniczyłam w przygotowaniu szkicu i finalnej wersji artykułu. Wyniki były częścią pracy doktorskiej, której byłam promotorem pomocniczym.

Oświadczenia Współautorów o ich wkładzie w powstanie poszczególnych publikacji zamieszczono w załączniku nr. 8 „Oświadczenia Współautorów”.

4.4. Omówienie pierwszego osiągnięcia naukowego

- **Wprowadzenie**

Celem prowadzonych przeze mnie badań było zaprojektowanie oraz otrzymanie nanocząstek o właściwościach fizycznych, które mogą być bezpośrednio wykorzystane do diagnostyki lub terapii przeciwnowotworowej. Właściwości fizyczne były w opisywanym osiągnięciu kluczowe, do osiągnięcia zamierzonych celów.

Projektowane przeze mnie nanocząstki wykazywały właściwości konwertujące energię w górę (ang. Upconversion, UC). Właściwość ta, polega na konwersji promieniowania o niższej energii (np. promieniowania z zakresu bliskiej podczerwieni, NIR) do promieniowania o wyższej energii (np. promieniowania z zakresu światła widzialnego lub ultrafioletowego). Tą właściwość można wykorzystać w obrazowaniu komórek nowotworowych, lub do wzbudzenia przyłączonego do powierzchni nanocząstek fotouczulacza. Wzbudzony w ten sposób fotouczulacz generuje toksyczne dla komórek reaktywne formy tlenu (ang. Reactive Oxygen Species, ROS). Takie nanocząstki można zastosować w terapii fotodynamicznej (ang. Photodynamic Therapy PDT). Strategie te zostały opisane w pracach [A1](#), [A2](#) oraz [A3](#).

Właściwości magnetyczne natomiast projektowanych i wytwarzanych przeze mnie nanocząstek mogą być wykorzystane do kierowania magnetycznego a także, jako kontrast w obrazowaniu rezonansem magnetycznych (ang. Magnetic Resonance Imaging, MRI). Magnetyzm tego typu nanomateriałów może być wykorzystany także do ogrzewania tkanek poprzez wzrost temperatury otoczenia tychże nanocząstek umieszczonych w zmiennym polu magnetycznym (hipertermia magnetyczna) a także pod wpływem naświetlania laserowego z zakresu bliskiej podczerwieni (terapia fototermiczna). Zagadnienia te zostały opisane w pracach [A4](#) i [A5](#). Bardzo istotne jest także łączenie wielu terapii w jednej nanocząsteczce o właściwościach optyczno-magnetycznych. Pozwala to na utworzenie nanocząstki wielofunkcyjnej. Taka nanocząstka została przeze mnie zaprojektowana, utworzona i zbadana w pracy [A5](#).

Po przyłączeniu do nanocząstek białek, specyficznych dla komórek nowotworowych, można te nanocząstki przyłączyć specyficznie do komórek nowotworowych. Takie podejście jest nazywane terapią celowaną. Koncepcja utworzenia wielofunkcyjnych nanocząstek, możliwych do zastosowania w diagnostyce nowotworowej (dzięki właściwości konwersji energii w górę), w terapii PDT oraz terapii celowanej została zbadana i opisana w pracy [A3](#).

Przedstawione przeze mnie badania mają charakter interdyscyplinarny. Łączą one chemię, fizykę oraz biologię. Jednak zasadniczy trzon opiera się na właściwościach fizycznych (takich, jak: konwersja energii w górę, transfer energii, czy magnetyzm) badanych nanocząstek w kontekście ich zastosowań w biologii. Dodatkowo wykorzystano szereg metod fizycznych do badań wytwarzanych materiałów (takie jak: spektroskopia optyczna, TEM, SEM, SQUID, mikroskopia konfokalna).

Moim osiągnięciem naukowym wnoszącym znaczny wkład do wiedzy o nanomateriałach w kontekście ich zastosowań w biologii i medycynie było opracowanie nanocząstek o takich właściwościach fizycznych, aby w konsekwencji okazały się one użyteczne w biologii. Przedstawione osiągnięcie naukowe obejmuje zbiór 5 publikacji [[A1-A5](#)] opublikowanych w latach 2017-2024.

- **Opis szczegółowy**

Jedną z metod, które mogą być wykorzystywane w leczeniu przeciwnowotworowym jest terapia fotodynamiczna (ang. Photodynamic Therapy, PDT). Metoda ta wymaga obecności fotoczułego barwnika organicznego, zwanego fotouczulaczem (ang. Photosensitizer, PS). Fotouczulacz wzbudzony światłem jest zdolny do wytwarzania reaktywnych form tlenu (ang. Reactive Oxygen Species, ROS), takich jak tlen singletowy ($^1\text{O}_2$), rodniki hydroksylowe ($\cdot\text{OH}$), lub ponadtlenkowe ($\text{O}_2^{\cdot-}$).^{1,2} Obecność dużej ilości ROS jest toksyczne dla komórek i w konsekwencji prowadzi do ich śmierci.^{3,4}

PDT to nieinwazyjna terapia przeciwnowotworowa o niewielkich skutkach ubocznych, ponieważ naświetlaniu poddawany jest jedynie ograniczony obszar zawierający PS. PDT jest także tańszą metodą leczenia w porównaniu z chemioterapią lub radioterapią.¹

Terapia PDT ma także swoje wady. Organiczne cząsteczki PS wymagają wzbudzenia światłem widzialnym (VIS) lub ultrafioletowym (UV), aby wytworzyć ROS. Światło to jest silnie pochłaniane przez tkanki, dlatego skuteczność terapii ogranicza mała głębokość penetracji.⁵ Związki organiczne pod wpływem dużej ilości światła mogą ulegać fotowysielaniu. A pacjent, któremu podano preparat z fotouczulaczem musi się znajdować w ciemności do momentu akumulacji PS w chorej tkance.^{6,7}

Jednym z rozwiązań powyższych problemów jest wykorzystanie światła bliskiej podczerwieni (NIR) do generacji ROS. W odróżnieniu od konwencjonalnej PDT, która ogranicza się do powierzchni skóry, PDT z użyciem NIR pozwala na penetrację nawet do 10 cm w głąb tkanki.⁸

Skutecznym narzędziem pozwalającym na wykorzystanie światła NIR do generacji ROS są nanocząstki domieszkowane pierwiastkami ziem rzadkich, tzw. nanocząstki konwertujące energię w górę (ang. Upconverting Nanoparticles, UCNPs). Przy odpowiednim doborze jonów domieszkujących możliwe jest uzyskanie emisji światła UV lub VIS przy wzbudzeniu NIR.^{9,10} Materiały UCNPs, które zapewniają stosunkowo wysoką wydajność kwantową konwersji energii w górę, to heksagonalne nanocząstki NaYF_4 domieszkowane jonami erbu i iterbu ($\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}$) lub jonami tulu i iterbu ($\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$).^{11,12} Jony Yb^{3+} odpowiadają za absorpcję światła NIR, natomiast jony Er^{3+} lub Tm^{3+} są emiterami światła. Stosunkowo wysoka wydajność kwantowa konwersji energii w górę nanocząstek NaYF_4 domieszkowanych jonami ziem rzadkich wynika z dopasowania sieci krystalicznej NaYF_4 z promieniami jonowymi jonów domieszkujących, co zapobiega tworzeniu się defektów. Dodatkowo struktura heksagonalna kryształu charakteryzuje się niską energią fononów, co minimalizuje bezpromienistą relaksację energetyczną.¹¹

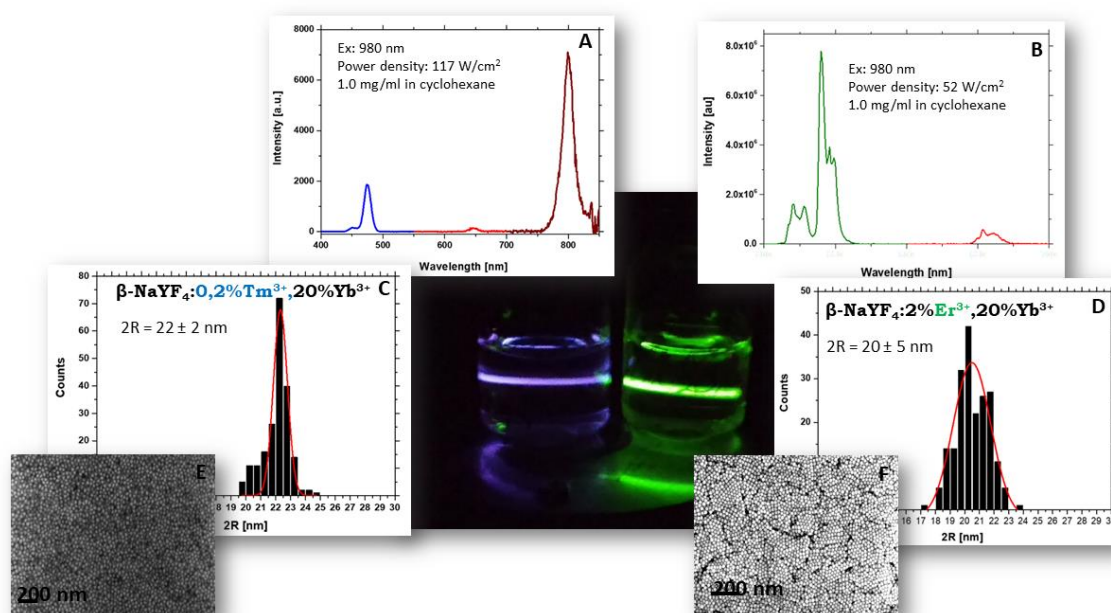
Aby otrzymać rozpuszczalne w wodzie nanocząstki oraz umożliwić funkcjonalizację ich powierzchni, nanocząstki NaYF_4 często pokrywa się powłoką SiO_2 .^{13,14,15} Aby wytworzyć czynnik terapeutyczny, który można by zastosować w terapii PDT, UCNPs należy skoniugować z cząsteczkami PS w sposób umożliwiający transfer energii pomiędzy UCNPs a cząsteczkami PS, które ostatecznie generują ROS.^{16,17}

Aby transfer energii pomiędzy nanocząstkami a PS był efektywny widmo emisji UCNPs musi nakładać się z widmem absorpcji PS. Transfer energii może nastąpić w procesie promienistym lub niepromienistym. Transferem promienistym jest reabsorpcja fotonów emitowanych z UCNPs przez cząsteczki PS. Proces ten wykazuje słabą zależność od odległości między emitującymi światło jonami Er^{3+} a pochłaniającymi światło cząsteczkami PS, ale jest z

natury nieefektywny. Z drugiej strony proces bezpromienisty zachodzi poprzez Försterowski rezonansowy transfer energii (ang. Förster Resonance Energy Transfer, FRET). Efektywność FRET silnie zależy od odległości – skaluje się z odwrotnością szóstej potęgi odległości.¹⁸

W pracy A1 wykorzystano jako PS – Róż Bengalski (ang. Rose Bengal, RB) – dobrze znany barwnik organiczny badany pod kątem różnych zastosowań biologicznych i medycznych: od barwienia komórek po nieinwazyjną PDT.¹⁹ Widmo absorpcji RB jest dobrze dopasowane do widma emisji jonów Er^{3+} w nanocząstkach $\text{NaYF}_4:2\%\text{Er}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$. Spośród hydrofilowych PS, RB wykazuje najwyższą efektywność wytwarzania ROS, sięgającą 75%.^{20,21} Najczęściej opisywane w literaturze przyłączanie RB do UCNPs polega na użyciu kwasu heksanowego (HA) jako linkera pomiędzy tymi dwoma związkami.^{18,22,23} Użycie HA komplikuje procedurę wytwarzania i prowadzi do zwiększonej odległości pomiędzy donorem a akceptorem, ograniczając efektywność procesu transferu energii, a w konsekwencji efektywność wytwarzania ROS.

Wykorzystane do badań w pracach składających się na cykl osiągnięcia habilitacyjnego nanocząstki $\text{NaYF}_4:2\%\text{Er}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$, oraz $\text{NaYF}_4:0,2\%\text{Tm}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$ przygotowano metodą rozkładu termicznego, a następnie zbadano ich właściwości fizyczne (widma luminescencji, rozkład rozmiarów, strukturę krystaliczną, itp.) ryc. 1.



Ryc. 1. Widma luminescencyjne roztworów nanocząstek (A) $\text{NaYF}_4:0,2\%\text{Tm}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$, (B) $\text{NaYF}_4:2\%\text{Er}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$ pobudzanych laserem 980 nm. Histogramy rozmiarów nanocząstek (C) $\text{NaYF}_4:0,2\%\text{Tm}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$, (D) $\text{NaYF}_4:2\%\text{Er}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$ otrzymane na podstawie zdjęć SEM. Zdjęcia SEM nanocząstek (E) $\text{NaYF}_4:0,2\%\text{Tm}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$, (F) $\text{NaYF}_4:2\%\text{Er}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$.

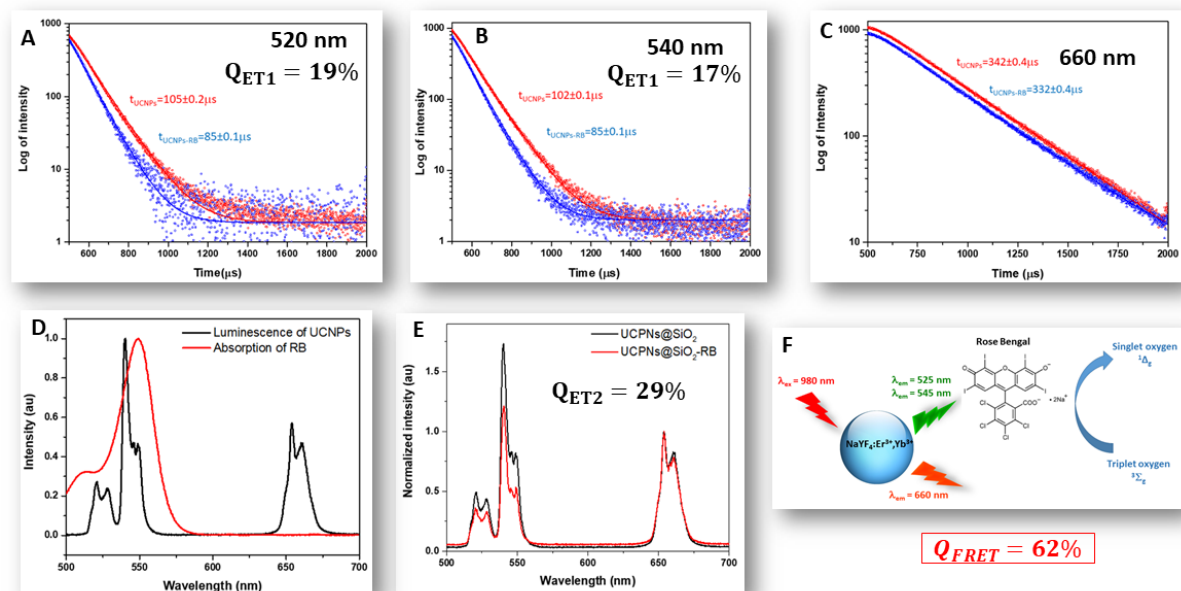
Mechanizm luminescencji nanocząstek NaYF_4 domieszkowanych jonami Er^{3+} i Yb^{3+} oraz Tm^{3+} i Yb^{3+} (tzw. konwersja energii w górę, ang. Upconversion, UC) jest dobrze poznany.²⁴ W przypadku $\text{NaYF}_4:20\%\text{Yb}^{3+},2\%\text{Er}^{3+}$ energia wzbudzenia przekazywana jest ze stanu wzbudzonego $^2\text{F}_{5/2}$ jonu Yb^{3+} do stanu do $^4\text{I}_{11/2}$ jonu Er^{3+} . Drugi transfer energii z jonu Yb^{3+} może zapełnić stan $^4\text{F}_{7/2}$ jonu Er^{3+} . Jon Er^{3+} może relaksować bezpromieniście (bez emisji fotonów) do poziomów $^2\text{H}_{11/2}$ i $^4\text{S}_{3/2}$ skąd może emitować zielone światło poprzez przejścia

promieniste $^2H_{11/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$ i $^4S_{3/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$. Alternatywnie, jon Er^{3+} może relaksować bezpromieniście do stanu $^4F_{9/2}$, prowadząc do czerwonej emisji poprzez przejście promieniste $^4F_{9/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$.²⁵ Natomiast nanocząstki domieszkowane jonami Yb^{3+} i Tm^{3+} charakteryzują się czterema głównymi pasmami emisyjnymi, o długości fali 474, 645, 697 i 800 nm. Po absorpcji długości fali 980 nm przez jony Yb^{3+} energia zostaje przeniesiona ze stanu iterbu $^2F_{5/2}$ do odpowiednio stanów 3H_6 , 3H_5 , 3F_2 i 1G_4 w jonach Tm^{3+} . W wyniku transferów energii i bezpromienistych przejść pomiędzy poziomami może nastąpić emisja odpowiednio poprzez przejścia promieniste: $^1G_4 \rightarrow ^3H_6$, $^1G_4 \rightarrow ^3F_4$, $^3F_3 \rightarrow ^3H_6$ i $^3H_4 \rightarrow ^3H_6$.²⁵

Otrzymane w ramach osiągnięcia habilitacyjnego nanocząstki otoczone zostały warstwą SiO_2 oraz SiO_2 zakończoną aminową grupą funkcyjną, w zależności od potrzeb.

Następnie do tak wytworzonej struktury $NaYF_4:20\%Yb^{3+},2\%Er^{3+}@SiO_2-NH_2$ (praca A1) przyłączono molekuły fotouczulacza, Rózu Bengalskiego, poprzez utworzenie wiązania amidowego. Istnienie tego wiązania zostało udowodnione w pomiarach FTIR. Należy podkreślić, że osiągnięto pełne pokrycie powierzchni UCNPs@ SiO_2 molekułami RB bez funkcjonalizowania RB za pomocą HA. Wynik ten wskazuje, że funkcjonalizacja RB nie jest konieczna do skutecznego pokrycia UCNPs@ SiO_2 . Jest to ważne, ponieważ wcześniej uważano, że funkcjonalizacja RB jest niezbędna, aby uniknąć zawady przestrzennej podczas amidowania powierzchni SiO_2 .²²

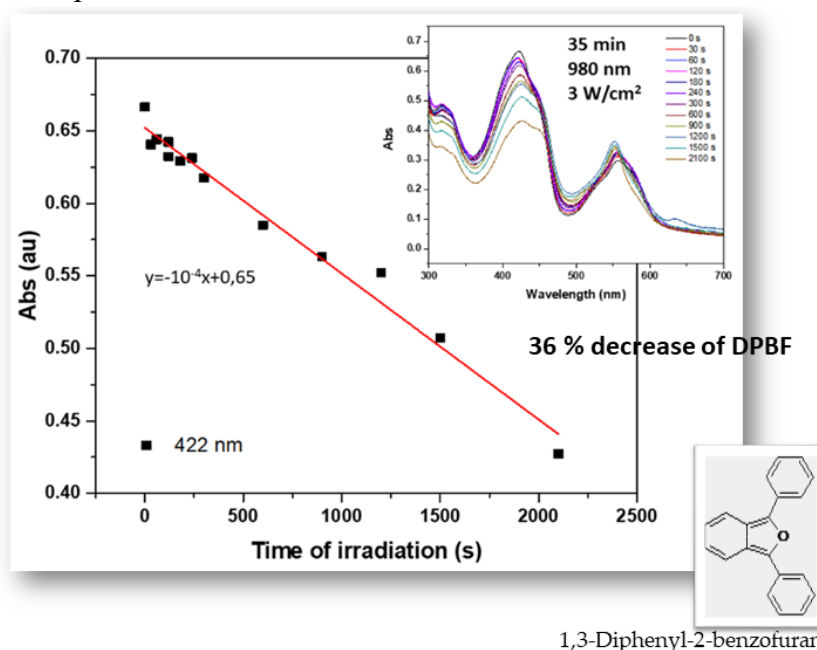
W celu zbadania mechanizmu transferu energii między UCNPs a RB zmierzono widma luminescencji nanocząstek oraz zaniki luminescencji w czasie dla każdej długości fali luminescencji UCNPs (Ryc. 2). Obliczona została wydajność transferu energii w obu przypadkach (dla luminescencji: $E_1=29\%$, dla czasów zaniku ($E_2=19\%$ i $E_2=17\%$ odpowiednio dla pasm 520 nm i 540 nm). Porównanie wartości E_1 i E_2 pokazuje, że w otrzymanym nanomateriale występuje zarówno proces reabsorpcji jak i FRET, przy czym FRET odpowiada za około 62% całkowitego transferu energii.



Ryc. 2. Krzywe zaniku luminescencji dla UCNPs@ SiO_2 (czerwone punkty) i UCNPs@ SiO_2 -RB (niebieskie punkty) zarejestrowane dla długości fali 520 nm (A), 540 nm (B) i 660 nm (C). Nałożenie widma absorpcji RB oraz luminescencji UCNPs (D). Widma luminescencji UCNPs@ SiO_2 -RB i UCNPs@ SiO_2 znormalizowane do długości fali 660 nm po naświetleniu laserem o długości fali 980 nm i mocy $19 W cm^{-2}$ (E). Schemat transferu energii z UCNPs do RB (F).

Wydajność FRET, czyli wartości E_2 , silnie spadają wraz ze wzrostem średniej odległości pomiędzy emitującymi światło jonami Er^{3+} a absorbującymi cząsteczkami RB. Zatem oczekuje się, że E_2 będzie znacznie niższe, gdy powierzchnia UCNPs@SiO_2 zostanie funkcjonalizowana HA, ponieważ jego sześciowęglowy łańcuch dodaje około 0,6 nm do odległości między RB i powierzchnią SiO_2 na UCNPs. Aby oszacować oczekiwany spadek E_2 wynikający ze zwiększonej odległości, skorzystaliśmy z pracy Melle i in., którzy obliczyli zależność wydajności FRET od odległości pomiędzy UCNP@SiO_2 a nanokryształami CdTe.²⁶ Te nanokrystały i cząsteczki RB wykazują bardzo podobne molowe współczynniki absorpcji w zakresie widmowym 500-550 nm. Zatem oczekuje się, że obliczona wydajność FRET pomiędzy UCNPs@SiO_2 i nanokryształami CdTe będzie podobna do wydajności FRET w układzie UCNPs@SiO_2 -RB. Analiza wyników pozwoliła oszacować, że E_2 zmniejszyłoby się o około 30% w przypadku koniugacji cząsteczek RB z HA. Jest to spory wkład w polepszanie wydajności FRET pomiędzy UCNPs a fotouczulaczem (RB), co bezpośrednio ma związek z wydajnością generowania ROS, a w konsekwencji, z wydajnością terapii PDT.

Wydajność generacji ROS określona została poprzez spadek absorpcji indykatora $^1\text{O}_2$, 1,3-Diphenyl-2-benzofuranu (DPBF), w wodnym roztworze nanocząstek UCNPs@SiO_2 -RB ($64 \mu\text{g ml}^{-1}$) po naświetlaniu laserem 980 nm o mocy 3 W cm^{-2} . Po 35 minutach naświetlania zaobserwowano 40% spadek absorbancji DPBF (Ryc. 3). Wyniki porównano z wynikami otrzymanymi dla mieszaniny UCNPs z RB, w których spadek absorpcji DPBF był nieznaczny. Wyniki te pokazują, że tylko cząsteczki RB związane z UCNP@SiO_2 są w stanie wygenerować $^1\text{O}_2$ po naświetleniu promieniowaniem NIR.

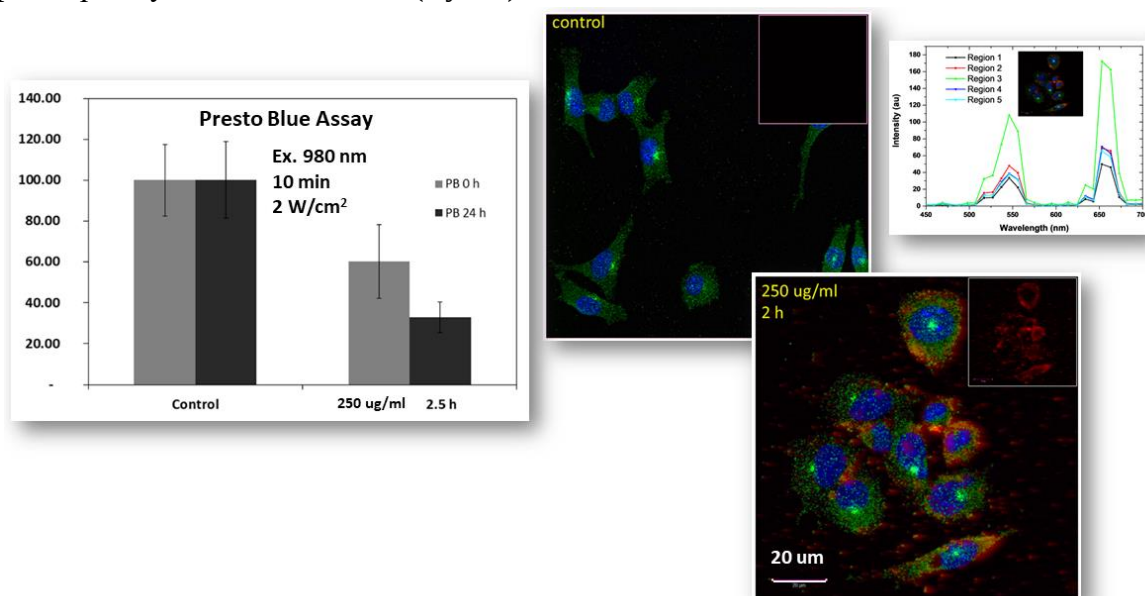


Ryc. 3. (A) Zależność czasowa znormalizowanej absorbancji DPBF przy długości fali 422 nm dla wodnego roztworu UCNPs@SiO_2 -RB po naświetleniu laserem 980 nm. Wstawka przedstawia widma absorbancji nanocząstek $64 \mu\text{g ml}^{-1}$ UCNPs@SiO_2 -RB i 50 μM DPBF.

Aby wykazać, że wytwarzanie $^1\text{O}_2$ jest bardzo wydajne, absorbancję DPBF zmierzono także dla roztworu zawierającego wolne cząsteczki RB w tym samym stężeniu jak dla UCNPs@SiO_2 -RB i naświetlonego światłem widzialnym o długości fali 549 nm przy

szacunkowej gęstości mocy 13 mW cm^{-2} . Dynamika spadku w obu przypadkach była podobna, co wskazuje, że w obu eksperymentach wytworzona została mniej więcej taka sama ilość tlenu singletowego. Potwierdza to opisywane osiągnięcie, że wytworzone przez nas materiały poprzez wydajny transfer energii wytwarzają porównywalną ilość ROS pod wpływem światła NIR, (które jest korzystniejsze w zastosowaniach biologicznych) do ilości wytwarzanej z samych fotouczulaczy pobudzanych światłem widzialnym.

W kolejnym etapie zbadano, czy ilość generowanych ROS z badanego materiału jest dostateczna do uśmiercenia komórek nowotworowych. W tym celu komórki raka gruczołu sutkowego myszy (4T1) inkubowano z UCNPs@SiO₂-RB przez 2,5 godziny w stężeniu $250 \mu\text{g ml}^{-1}$. Komórki następnie naświetlano światłem laserowym o długości fali 980 nm i gęstości mocy 2 W cm^{-2} przez 10 minut. Następnie przeprowadzono test przeżywalności Presto Blue (PB). Przeżywalność komórek spadła po tym czasie do 60%. Po 24 godzinach od zastosowanej terapii, ponownie wykonano test BP na tych samych komórkach i zaobserwowano dalszy spadek przeżywalności - do 33% (Ryc. 4).



Ryc. 4. Wyniki testu przeżywalności Presto Blue na komórkach 4T1 inkubowanych z $250 \mu\text{g ml}^{-1}$ UCNPs@SiO₂-RB po 10 minutach naświetlania 980 nm (2 W cm^{-2} , 10 minut) po 1 godzinie i 24 godzinach po naświetlaniu. Obrazy otrzymane z mikroskopu konfokalnego nanocząstek UCNPs@SiO₂-RB we wnętrzu komórek 4T1. Kolor zielony – lizosomy, kolor niebieski – jądra komórkowe, kolor czerwony – nanocząstki.

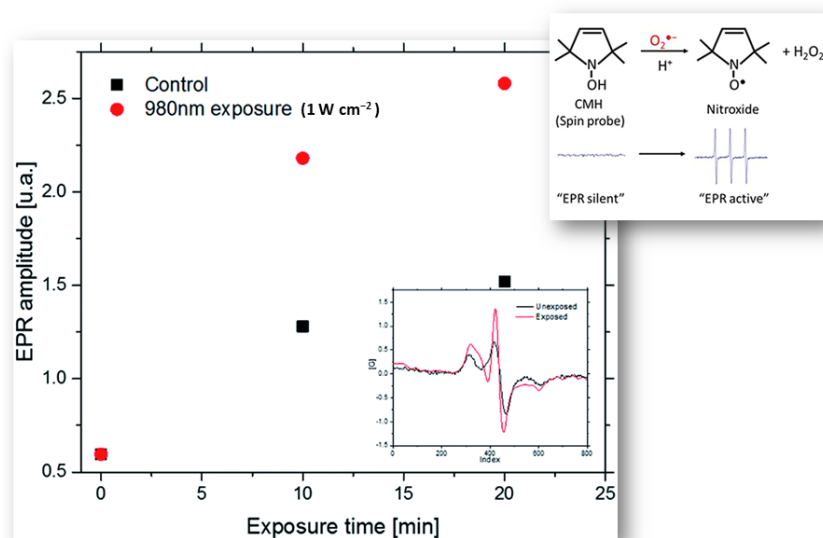
Podsumowując, w pracy [A1](#) zademonstrowano skuteczną terapię PDT *in vitro* przy użyciu skoniugowanych z RB nanocząstek konwertujących energię w górę NaYF₄:2%Er³⁺,20%Yb³⁺ przy wzbudzeniu światłem NIR o długości fali 980 nm. Po 10-minutowym naświetlaniu komórek nowotworowych 4T1 inkubowanych z $250 \mu\text{g ml}^{-1}$ nanocząstek laserem 980 nm o mocy 2 W cm^{-2} ich przeżywalność spadła do około 30% w porównaniu z grupą kontrolną, czyli komórkami inkubowanymi z nanocząstkami bez naświetlania NIR. Co ważne, tę wysoką skuteczność terapeutyczną osiągnięto bez funkcjonalizacji HA. Zastosowana w pracy procedura pozwoliła uzyskać pełne pokrycie powierzchni nanocząstek cząsteczkami RB, co pokazuje, że etap funkcjonalizacji nie jest konieczny, wbrew wcześniejszym założeniom.²³

Pominięcie funkcjonalizacji HA nie tylko uprościło procedurę syntezy, ale także zmniejszyło odległość między nanocząsteczkami UCNPs a cząsteczkami RB. Pomiary czasowo-rozdzielczej fluorescencji wykazały, że transfer energii pomiędzy UCNPs a RB zachodzi głównie poprzez FRET. Prowadzi to do wydajnego wytwarzania ROS.

Pomimo, że PDT z PS przyłączonym do UCNPs ma szereg, opisywanych wyżej zalet, nadal pozostają nierozwiązane problemy z możliwością fotowysbielania PS.²⁷ Dodatkowo wciąż pacjent potraktowany takim nanokonstruktem musi pozostać w ciemności do czasu akumulacji materiału w chorej tkance (przez obecność PS, który nadal pobudzany światłem VIS wytwarza ROS).

Nanocząstki NaYF₄ domieszkowane jonami iterbu i tulu stanowią alternatywny układ pozwalający uniknąć niestabilnych cząsteczek fotouczulaczy do generowania ROS.²⁸ Widmo emisyjne pochodzące od pary jonowej (Yb³⁺-Tm³⁺) wzbudzone laserem 980 nm, pozwala na zastosowanie układu konwersji energii w górę, do generacji ROS bez żadnych dodatkowych związków organicznych, takich jak cząsteczki PS. Emitowane światło UV o wysokiej energii jest zdolne do rozkładu cząsteczek wody na toksyczne rodniki.

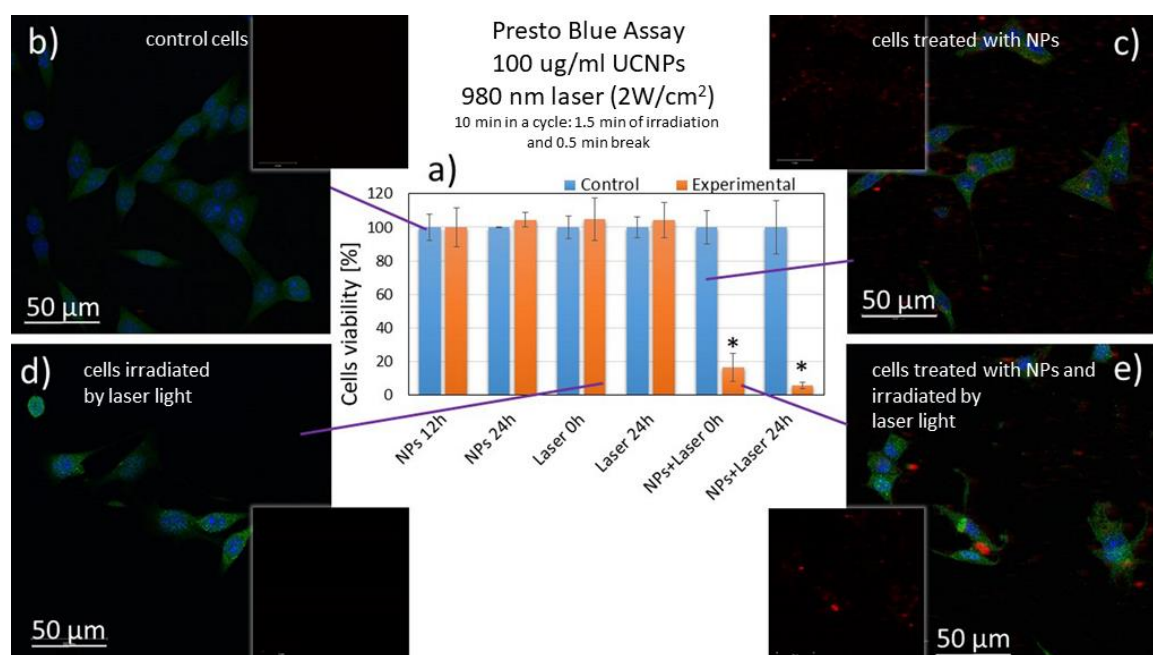
W pracy A2 wytworzone zostały UCNPs domieszkowane jonami Yb³⁺ i Tm³⁺ pokryte SiO₂. Nanocząstki NaYF₄:0.2%Tm³⁺,20%Yb³⁺, wykazują intensywną luminescencję w zakresie UV, niebieskim, czerwonym oraz NIR pod wpływem naświetlania laserem 980 nm. Zakres emisji UV umożliwia generowanie ROS w środowisku wodnym, co zostało potwierdzone w badaniach spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) pod wpływem naświetlania laserem 980 nm. Wodny roztwór nanocząsteczek o stężeniu 15 mg ml⁻¹ zmieszano z pułapką spinową 1-hydroksy-3-metoksykarbonylo-2,2,5,5-tetrametylopirolidyną (CMH), która daje sygnał EPR po reakcji w wolnych rodnikami. Sygnał EPR mierzono, co dziesięć minut naświetlania. Zaobserwowano 70% wzrost sygnału EPR po 20 minutach naświetlania (Ryc. 5). Jest to ważne osiągnięcie z punktu widzenia nowej generacji materiałów produkujących ROS bez użycia fotouczulaczy, z pominięciem dodatkowych warstw nieorganicznych, opisywanych przez innych badaczy.^{29,30,31,32,33,34}



Ryc. 5. Wykres EPR sygnału pułapki spinowej CMH. CMH aktywowano przez reaktywne formy tlenu powstałe w wyniku rozkładu wody przez nanocząsteczki emitujące wysokoenergetyczne promieniowanie. Grupa kontrolna - roztwór nienaświetlany. Wstawka przedstawia przykładowe widmo EPR (po 20 minutach naświetlania).

Badania cytotoksyczności wykazały, że wszystkie przygotowane nanomateriały są nietoksyczne nawet w stosunkowo wysokim stężeniu ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$) przy 48-godzinnej inkubacji (testy MTT na komórkach raka szyjki macicy HeLa). Należy podkreślić, że w pomiarach z użyciem mikroskopu konfokalnego nanocząstek wewnątrz komórek HeLa, nie zaobserwowano mierzalnego sygnału autofluorescencji struktur biologicznych po wzbudzeniu 980 nm w kanale nanocząstek.

W pracy A3 przetestowaliśmy wyżej wymieniony rodzaj UCNPs na żywych komórkach nowotworowych 4T1, jako alternatywę dla UCNPs modyfikowanych PS w terapii PDT. W niniejszej publikacji po raz pierwszy przeprowadzono eksperyment z PDT w oparciu o nanocząsteczki domieszkowane jonami Tm^{3+} i Yb^{3+} , bez dodatku PS. PDT *in vitro* testowano na komórkach nowotworowych 4T1 inkubowanych z nanocząsteczkami $\text{NaYF}_4:0,2\%\text{Tm}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}@\text{SiO}_2$ ($100 \mu\text{g ml}^{-1}$) i naświetlanych światłem NIR, 980 nm (2 W cm^{-2} ; cykl 10 min: 1,5 min naświetlania i 0,5 min przerwy). Po 24 godzinach od naświetlania przeżywalność komórek (testy Presto Blue, pomiary mikroskopowe) spadła do poniżej 10%, co świadczy o bardzo dobrej efektywności terapii (Ryc. 6). Jest to przykład zastosowania właściwości fizycznych UCNPs w kontekście ulepszonej terapii PDT na żywych komórkach nowotworowych. Wyniki te wnoszą duży wkład w dziedzinę fizyki i jej biologicznych aplikacji.

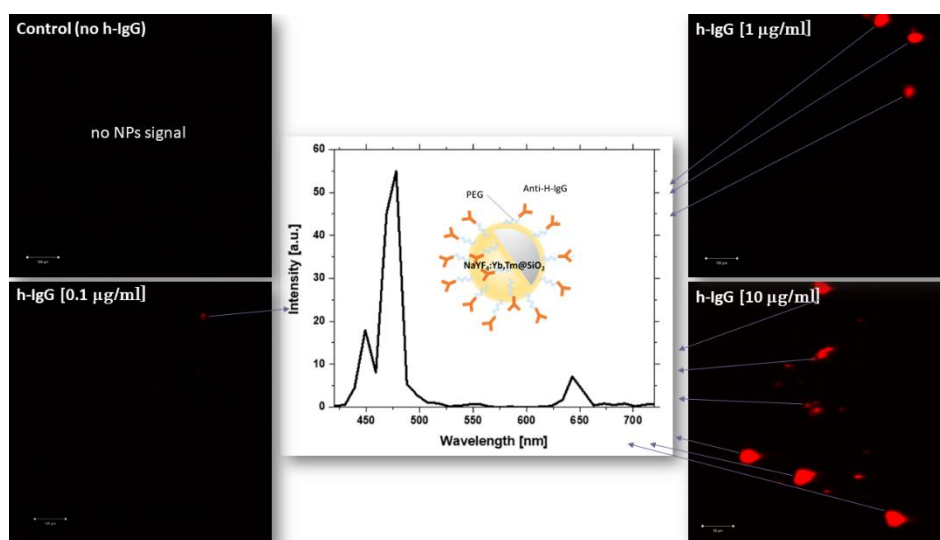


Ryc. 6. Wyniki przeżywalności PrestoBlue komórek nowotworowych 4T1 inkubowanych z UCNPs@SiO_2 ($100 \mu\text{g ml}^{-1}$) i naświetlanych światłem lasera o długości fali 980 (a). Obrazy z mikroskopu konfokalnego: komórek kontrolnych (b), komórek z nanocząsteczkami (c), komórek naświetlanych laserem 980 nm (d) i komórek z nanocząstkami po naświetlaniu laserem 980 nm (e). Kolor zielony - wczesne endosomy, kolor niebieski - jądra, a kolor czerwony - UCNPs@SiO_2 .

Dostępność wielu metod modyfikacji otoczki tlenku krzemu w połączeniu ze stale poszerzającą się wiedzą na temat zmian w komórkach nowotworowych umożliwia opracowanie indywidualnie ukierunkowanej terapii przeciwnowotworowej. Tkanki nowotworowe mogą być rozpoznawane przez biofunkcjonalizowane nanocząsteczki. Obecność

specyficznych receptorów na powierzchni komórek nowotworowych skutkuje tym, że można oznaczyć je nanocząsteczkami zawierającymi specyficzne przeciwciała na swojej powierzchni. A dzięki możliwości generowania ROS, staje się możliwe specyficzne uśmiercanie komórek, do których nanocząstki zostały przyłączone.^{35,36,37} W pracy A3 dołączone zostało przeciwciało anti-human IgG (anti-h-IgG) do nanocząstek $\text{NaYF}_4:0,2\%\text{Tm}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}@\text{SiO}_2$ modyfikowanych silan-PEG-NHS 2000. Glikol polietylenowy (PEG) zapobiega agregacji, zmniejsza niespecyficzne wiązania i poprawia rozpuszczalność nanocząsteczek w wodzie. Grupy estrowe NHS są wysoce reaktywne w stosunku do białek.³⁸

Przyłączenie to zostało potwierdzone poprzez eksperyment z użyciem modelu błony pokrytej h-IgG, do którego przyłącza się przeciwciało znajdujące się na nanocząstkach. Nanocząstki $\text{UCNPs}@\text{SiO}_2\text{-PEG-anti-h-IgG}$ przyłączyły się do białka h-IgG pokrywającego membranę we wszystkich badanych stężeniach (Ryc. 7). Jest to ważne osiągnięcie, ze względu na to, że $\text{UCNPs}@\text{SiO}_2$ można stosować nie tylko do PDT, ale także do specyficznego bioznakowania komórkowego.



Ryc. 7. Powierzchnie membran nitrocelulozowych z przyłączonymi $\text{UCNPs}@\text{SiO}_2\text{-PEG-NHS-anti-h-IgG}$ analizowane za pomocą mikroskopu konfokalnego przy wzbudzeniu 980 nm. Charakterystyczne widmo nanocząsteczek mierzone przy wzbudzeniu 980 nm.

Jak już wspomniałam wcześniej, oprócz nanocząstek o właściwościach optycznych, w ramach osiągnięcia habilitacyjnego, zaprojektowane i wytworzone zostały także nanocząstki Fe_3O_4 o właściwościach magnetycznych. Magnetyzm tego typu nanomateriałów może być wykorzystany do obrazowania MRI, a także do ogrzewania tkanek poprzez wzrost temperatury otoczenia tychże nanocząstek umieszczonych w zmiennym polu magnetycznym (hipertermia magnetyczna) a także pod wpływem naświetlania laserowego z zakresu bliskiej podczerwieni (terapia fototermiczna). Zagadnienia te zostały opisane w pracach A4 i A5.

W przypadku nanocząstek magnetycznych wykorzystywanych w hipertermii magnetycznej, efekt nagrzewania osiąga się poprzez ich umieszczenie w zmiennym polu magnetycznym (ang. Alternating Magnetic Field, AMF).

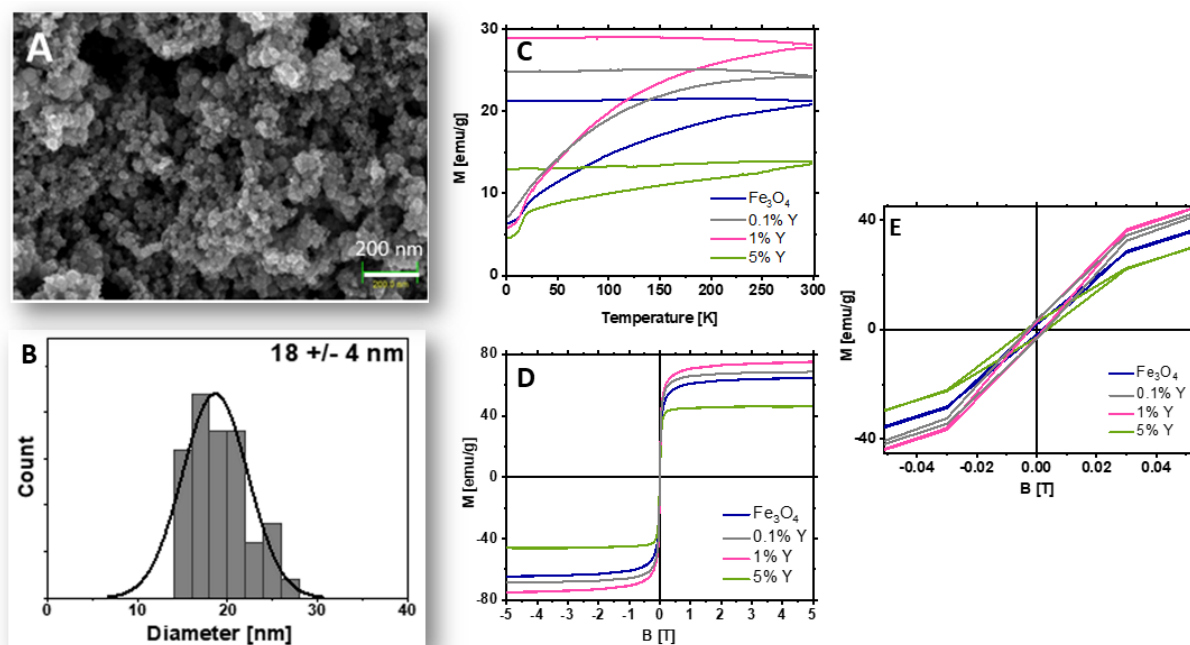
Kiedy cząstki znajdują się w stanie superparamagnetycznym, tj. ich rozmiary są poniżej pewnej krytycznej wartości (dla Fe_3O_4 , około 30 nm), w wytwarzaniu ciepła pod wpływem

AMF dominuje mechanizm relaksacji Néela i Browna.^{39,40} Mechanizm relaksacji Néela dotyczy rotacji momentów magnetycznych w obrębie każdej cząstki, natomiast mechanizm relaksacji Browna związany jest z rotacją całej nanocząstki, której momenty magnetyczne ustawiają się zgodnie z kierunkiem pola.^{41,42}

Głównym celem badań przedstawionych w pracy A4 była synteza magnetycznych nanocząstek Fe_3O_4 (struktura magnetytu) domieszkowanych jonami Y^{3+} (0%, 0.1%, 1% i 10%) w celu uzyskania maksymalnej wydajności ogrzewania w hipertermii magnetycznej do zastosowania w terapii nowotworowej.

Struktury krystaliczne otrzymanych nanocząstek zbadane techniką XRD potwierdziły jednofazową strukturę odwrotnego spinelu ($\text{Fe}^{2+}\text{Fe}_2^{3+}\text{O}_4^{2-}$) dla wszystkich próbek.

Rozmiar nanocząstek wzrastał wraz ze wzrostem zawartości Y^{3+} w strukturze (18 nm dla nanocząstek Fe_3O_4 i domieszkowanych 0,1% Y^{3+} ; 23 nm dla nanocząstek z 1% Y^{3+} i 168 nm dla 10% Y^{3+}). Tak przygotowane nanocząstki Fe_3O_4 wykazywały właściwości ferromagnetyczne w temperaturze pokojowej. Ilustruje to przerwa pomiędzy dwiema krzywymi wykresu ZFC/FC oraz histereza na wykresie zależności magnetyzacji od przyłożonego pola. Maksymalne namagnesowanie osiągnięte zostało dla próbki domieszkowanej 1% Y^{3+} , co potwierdza, że namagnesowanie wzrasta wraz ze stężeniem domieszki, aż do maksimum. Następnie namagnesowanie maleje wraz z dalszym wzrostem procentowym domieszki (Ryc. 8).



Ryc. 8. Zdjęcie SEM (A) i histogram (B) nanocząstek Fe_3O_4 . Wykres ZFC/FC (C), pętle histerezy nanocząstek zarejestrowane w temperaturze 310 K (D, E).

Namagnesowanie Fe_3O_4 wynika z różnicy w wypadkowym momencie magnetycznym jonów w miejscach tetraedrycznych i oktaedrycznych sieci. Luki oktaedryczne zajmowane są przez jony Fe^{2+} oraz Fe^{3+} , natomiast luki tetraedryczne zajmowane są wyłącznie przez jony Fe^{3+} . Interakcje nadwymiany AB przeważają nad interakcjami wewnątrzsubsiściowymi AA i BB (model Néela).⁴³ Neel rozważał trzy rodzaje oddziaływań wymiennych pomiędzy niesparowanymi elektronami dwóch jonów: (i) obydwa jony znajdujące się w miejscach A

(oddziaływanie AA), (ii) oba jony znajdujące się w miejscach B (oddziaływanie BB) oraz (iii) jeden jon znajdujący się w miejscu A, a drugi w miejscu B (oddziaływanie AB). Oddziaływanie AB w dużym stopniu dominuje nad oddziaływaniami AA i BB. Oddziaływanie AB ustawia wszystkie spiny magnetyczne w miejscu A w jednym kierunku, a spiny w miejscu B w przeciwnym kierunku. Wypadkowy moment magnetyczny sieci jest zatem różnicą między momentami magnetycznymi podsieci A i B. Zatem nasycenie namagnesowania pochodzi z sumy (różnicy) wektorów wypadkowych momentów magnetycznych poszczególnych podsieci A i B.^{44,45,46} Namagnesowanie bezpośrednio pokazuje rozkład jonów Fe^{3+} pomiędzy dwiema podsieciami. Jeśli jony Fe^{3+} zajmują miejsca zarówno oktaedryczne, jak i tetraedryczne, zostanie zaobserwowane uporządkowanie ferrimagnetyczne. Namagnesowanie jest wyższe w nanocząstkach magnetycznych niż w materiałach objętościowych, z powodu tworzenia się częściowo odwróconego spinelu. Umieszczenie jonów Fe^{3+} w miejscach tetraedrycznych powoduje nadwymianę $\text{Fe}^{3+}_\text{A}-\text{O}-\text{Fe}^{3+}_\text{B}$ i obserwuje się wzrost namagnesowania.

Zastępując jony Fe^{3+} niemagnetycznymi jonami Y^{3+} , powinno się zaobserwować zmniejszenie namagnesowania koordynacji oktaedrycznej, co zmniejsza w rezultacie wartość magnetyzacji. Jednak przy niewielkiej ilości dodatku Y^{3+} (do 1%) tendencja jest odwrotna. W przypadku małych stężeń Y^{3+} wartość magnetyzacji się zwiększa. Istnieją dwa możliwe wyjaśnienia obserwowanego efektu. Po pierwsze, jeśli niemagnetyczne jony Y^{3+} w niskich stężeniach dostaną się do miejsc tetraedrycznych spinelu, pozostawiając Fe^{3+} w miejscach oktaedrycznych, może to również prowadzić do wzrostu namagnesowania. Po drugie, obecność jonów Y^{3+} zwiększa rozmiar nanocząstek, co zwiększa temperaturę blokowania i namagnesowanie nasycenia dla niskich stężeń domieszek. Chociaż dalsze zwiększanie domieszkowania Y^{3+} stale zwiększa rozmiar nanocząstek, ostatecznie prowadzi to do zmniejszenia magnetyzacji, ponieważ niemagnetyczny itr zastępuje żelazo magnetyczne w miejscach oktaedrycznych.^{47,48}

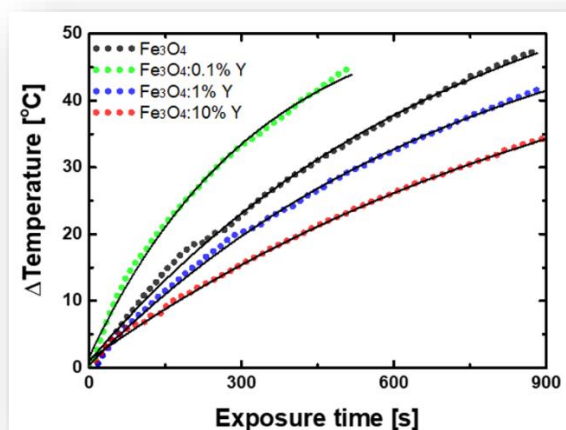
Wykonano pomiary hipertermii magnetycznej wodnych roztworów otrzymanych nanocząstek magnetycznych (Ryc. 9). Wyznaczono wartości specyficznego współczynnika absorpcji (ang. Specific Absorption Rate, SAR) i rzeczywistej straty mocy (ang. Intrinsic Loss of Power, ILP).^{49,50} W hipertermii ważnym czynnikiem jest czas ekspozycji. Dlatego krótszy czas wytwarzania wystarczającej ilości ciepła przez nanocząstki magnetyczne w AMF powoduje, że są one bardziej użyteczne do stosowania w hipertermii magnetycznej.

Najlepsze wyniki otrzymano dla nanocząstek Fe_3O_4 z zawartością 0,1% Y^{3+} ($\text{SAR} = 194 \text{ W g}^{-1}$ i $\text{ILP} = 1,85 \text{ nHm}^2 \text{ kg}^{-1}$ dla pola magnetycznego 16 kA m^{-1} i częstotliwości 413 kHz).

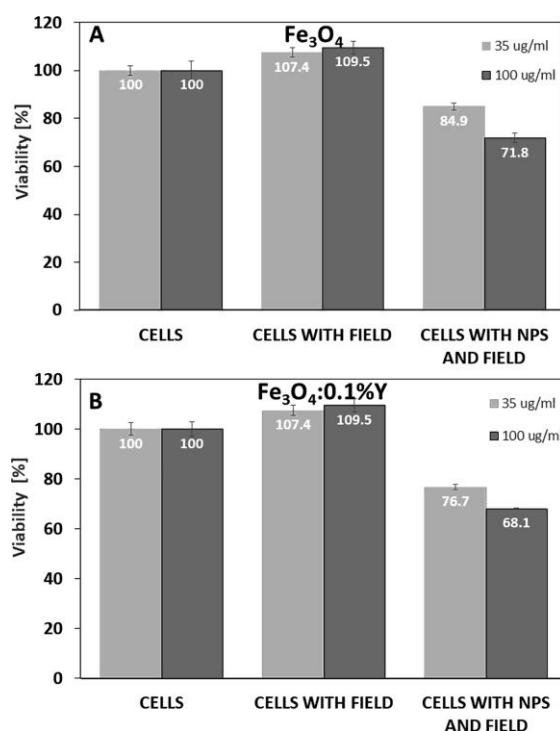
Nanocząstki $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{Y}$ wykazywały się niską cytotoksycznością komórkową (wykonano cztery niezależne testy cytotoksyczności MTT, CyQuant, PrestoBlue i Live/Dead na komórkach 4T1) nawet przy relatywnie wysokich stężeniach, $35 \mu\text{g ml}^{-1}$. Różne etapy internalizacji nanocząstek i ich lokalizację wewnątrz komórek badano przy użyciu techniki TEM i mikroskopii konfokalnej. Wyniki badań wykazały, że nanocząstki magnetyczne są wprowadzane do komórek 4T1 poprzez transport aktywny (endocytozę).

Wyniki pomiarów hipertermii magnetycznej na komórkach 4T1 z użyciem nanocząstek magnetycznych $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{Y}$ pokazały, że nanocząsteczki Fe_3O_4 domieszkowane 0,1% Y^{3+} znacząco zmniejszyły żywotność komórek w porównaniu z nanocząstkami niedomieszkowanymi. Nanocząsteczki $\text{Fe}_3\text{O}_4:0,1\% \text{ Y}$ w stężeniu $35 \mu\text{g ml}^{-1}$ zmniejszyły przeżywalność komórek do 77%, a przy stężeniu $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ do 68% po zastosowaniu AMF

przez 30 min. Dla porównania, inkubacja z nanocząstkami Fe_3O_4 zmniejszyła przeżywalność komórek do 85%, dla stężenia $35 \mu\text{g ml}^{-1}$ i do 72% dla $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ (Ryc. 10).



Ryc. 9. Pomiary wzrostu temperatury w zmiennym polu magnetycznym w zależności od czasu (413 kHz; 200 Gs; $C_{\text{NPs}}=3 \text{ mg ml}^{-1}$).



Ryc. 10. Wyniki pomiarów hipertermii magnetycznej wykonanych na komórkach 4T1 z nanocząstkami (A) Fe_3O_4 i (B) $\text{Fe}_3\text{O}_4:0.1\% \text{ Y}$ ($35 \mu\text{g ml}^{-1}$ i $100 \mu\text{g ml}^{-1}$). Test przeżywalności MTT wykonano bezpośrednio po zastosowaniu pola magnetycznego (30 min, 20 mT, 423 kHz).

Wyniki te sugerują, że nanocząstki Fe_3O_4 domieszkowane jonami Y^{3+} , dzięki swoim właściwościom magnetycznym nadają się do zastosowań biomedycznych, zwłaszcza do leczenia hipertermią magnetyczną.

Naukowcy na całym świecie opracowują nanocząstki magnetyczne o jak najwyższym możliwym namagnesowaniu i najlepszej reakcji temperaturowej w zmiennym polu

magnetycznym do stosowania w hipertermii przy zachowaniu możliwie jak najmniejszych rozmiarów. W pracy A4 pokazałam jedną z możliwości otrzymania nanocząstek o lepszych właściwościach magnetycznych od nanocząstek Fe_3O_4 poprzez domieszkowanie ich jonami Y^{3+} . Dodatkowo zaproponowałam mechanizm zwiększania magnetyzacji nanocząstek Fe_3O_4 poprzez tego rodzaju domieszki. Jest to duże osiągnięcie w dziedzinie fizyki, chemii i zastosowań biologicznych.

Nanocząsteczki Fe_3O_4 oprócz zastosowań w hipertermii magnetycznej, są dobrymi kandydatami do zastosowań w terapii fototermalnej (ang. Photothermal Therapy, PTT). Główny mechanizm związany z konwersją światła NIR na ciepło opiera się na absorpcji fotonów i rozpraszaniu energii w procesach niepromienistych, co prowadzi do aktywacji fononów sieci krystalicznej i wzrostu temperatury materiału.^{51,52,53,54}

W pracy A5 przygotowaliśmy wielofunkcyjne nanokonstrukty składające się z UCNPs ($\text{NaYF}_4:2\%\text{Er}^{3+}, 20\%\text{Yb}^{3+}$) otoczonych warstwą SiO_2 , do której kowalencyjnie przyłączyliśmy sfunkcjonalizowane nanocząstki Fe_3O_4 (UCNPs@ SiO_2 @ Fe_3O_4). Pod wpływem naświetlania laserem NIR nanokonstrukty te mogą jednocześnie być zastosowane w terapii fototermicznej i obrazowaniu poprzez luminescencję związaną z konwersją energii w górę. Zarówno PTT, jak i obrazowanie wykorzystują światło NIR, które znajduje się w oknie biologicznym.

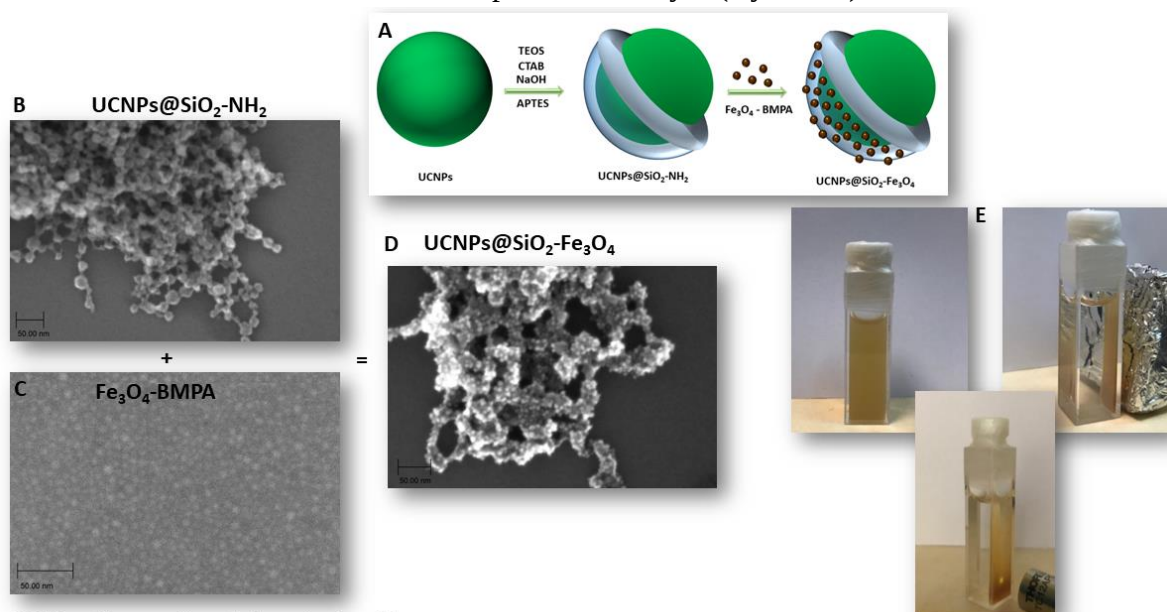
Analizując okno biologiczne, długości fal wzbudzenia i emisji powinny mieścić się w zakresie 650–900 nm, który opisuje zakres obejmujący głęboką czerwień i bliską podczerwień. W tym obszarze absorpcja i autofluorescencja są minimalne, dzięki czemu przenikanie światła przez tkankę jest maksymalne. Przy długościach fal dłuższych niż 900 nm absorpcja wody gwałtownie wzrasta.⁵⁵

Konwersja energii w górę w UCNPs następuje po wzbudzeniu światłem o długości 980 nm. Gdy naświetlanie trwa dość krótko, nie obserwuje się nagrzewania tkanki na skutek absorpcji wody. Jednakże po dłuższym czasie naświetlania, może nastąpić uszkodzenie tkanki.⁵⁶ Aby mieć pewność, że PTT powstaje z nanocząstek Fe_3O_4 w określonej lokalizacji i aby uniknąć wzbudzenia wody w całej tkance, do wytwarzania ciepła użyto długości fal 808 nm i 880 nm.

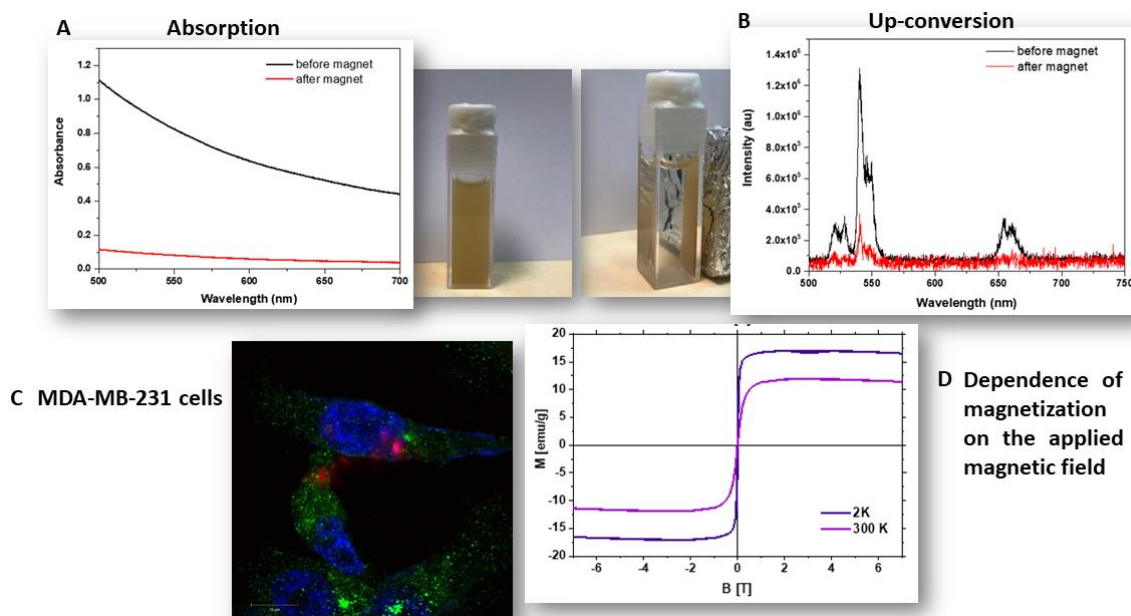
W pracy A5 nanocząsteczki UCNPs i Fe_3O_4 zostały połączone wiązaniem kowalencyjnym (Ryc. 11). Początkowo stabilizujący nanocząstki Fe_3O_4 kwas oleinowy na powierzchni zastąpiono kwasem dibromodimetylopropionowym (ang. dibromodimethylpropionic acid, BMPA) poprzez wymianę ligandów (Fe_3O_4 -BMPA). Grupy bromowe BMPA mogą ulegać reakcji podstawienia nukleofilowego z grupami aminowymi znajdującymi się na powierzchni SiO_2 pokrywającej UCNPs.⁵⁷

Aby potwierdzić połączenie nanocząsteczek Fe_3O_4 z UCNPs@ SiO_2 , zmierzono luminescencję przy wzbudzeniu 980 nm i absorpcję roztworu nanocząsteczek UCNPs@ SiO_2 - Fe_3O_4 . Następnie roztwór nanocząsteczek UCNPs@ SiO_2 - Fe_3O_4 wprowadzono do magnesu na 24 godziny. Po separacji magnetycznej powtórzono pomiary luminescencji i absorpcji roztworu. Pomiary luminescencji wykazały, że próbka emituje promieniowanie w zakresie widzialnym charakterystycznym dla konwersji energii w górę UCNPs po wzbudzeniu laserem o długości fali 980 nm. Pomiary absorpcji wykazały, że próbka absorbuje w zakresie odpowiadającym absorpcji Fe_3O_4 . Spadek intensywności luminescencji i absorpcji po przyłożeniu pola magnetycznego świadczy o braku nanocząsteczek w roztworze. Był to pośredni dowód na przyłączenie Fe_3O_4 do powierzchni nanocząsteczek UCNPs@ SiO_2 (Ryc. 12 A,B). Pomiar namagnesowania SQUID potwierdził właściwości magnetyczne UCNPs@ SiO_2 -

Fe_3O_4 (Ryc. 12D). Po wprowadzeniu nanocząstek do wnętrza komórek MDA-MB-231 potwierdzono ich obecność w mikroskopie konfokalnym (Ryc. 12C).

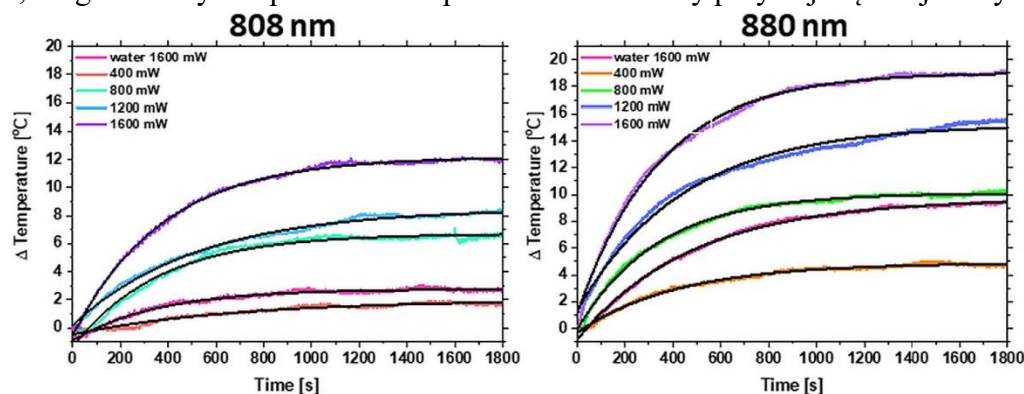


Ryc. 11. (A) Etapy syntezy nanocząstek $\text{UCNPs@SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$. TEOS – tetraethoxysilane, CTAB - n-hexadecyltrimethylammonium bromide, BMPA - dibromodimethylpropionic acid. Zdjęcia SEM nanocząstek $\text{UCNPs@SiO}_2\text{-NH}_2$ (B), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-BMPA}$ (C), $\text{UCNPs@SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ (D). (E) Zdjęcie roztworu nanocząstek $\text{UCNPs@SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ przed i po przyłożeniu pola magnetycznego oraz zdjęcie luminescencji nanocząsteczek wzbudzonych światłem lasera o długości fali 980 nm.



Ryc. 12. (A) Widmo absorpcji roztworu nanocząstek $\text{UCNPs@SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ przed i po przyłożeniu magnes. (B) Widmo konwersji energii w górę $\text{UCNPs@SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ przed i po przyłożeniu magnes (980 nm, gęstość mocy: 15 W cm^{-2}). (C) Zdjęcie z mikroskopu konfokalnego komórek MDA-MB-231 po 16 h inkubacji $\text{UCNPs@SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ ($500 \mu\text{g ml}^{-1}$). Nanocząstki pobudzano laserem 980 nm (kolor czerwony), wybarwione lizosomy pobudzane laserem 488 (zielony kolor), wybarwione jądra komórkowe pobudzane laserem 690 nm (niebieski kolor). (D) Zależność magnetyzacji od przyłożonego pola magnetycznego dla nanocząstek $\text{UCNPs@SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$ w 2 K i 300 K.

Nasze badania wykazały, że wodne zawiesiny UCNPs@SiO₂@Fe₃O₄ można efektywnie ogrzewać przy obu zastosowanych laserach (808 nm oraz 880 nm). Wpływ temperatury mierzono w funkcji mocy lasera (Ryc. 13). Zaobserwowano istotny wzrost temperatury wraz ze wzrostem mocy lasera dla obu długości fal, dla wodnych roztworów nanocząsteczek o stężeniu 2,5 mg ml⁻¹. Wyniki porównano z pomiarami dla wody przy największej mocy lasera.



Ryc. 13. Krzywe wzrostu temperatury nanocząstek pod wpływem naświetlania laserem 808 nm i 880 nm w zależności od mocy lasera.

Zaobserwowano istotną różnicę wzrostu temperatury dla lasera 880 nm w porównaniu do 808 nm dla wszystkich mocy. Jest to spowodowane większym nagrzewaniem się samej wody pod wpływem promieniowania laserowego o długości fali 880 nm, w związku z większą absorpcją wody w tym zakresie długości fal.⁵⁸ Jeśli jednak porówna się wyniki z wynikami dla wody wzbudzonej największą mocą danego lasera, to największą różnicę obserwuje się dla lasera 808 nm (długość fali 808 nm znajduje się w oknie biologicznym).

Ze względu na właściwości optyczne nanokonstruktów mogliśmy zlokalizować nasze materiały wewnątrz komórek nowotworowych MDA-MB-231 za pomocą obrazowania konfokalnego przy wzbudzeniu laserem o długości fali 980 nm. Ponadto przedstawiliśmy wyniki testu cytotoksyczności, które wykazały, że stężenia nanokonstruktów aż do 500 μg ml⁻¹ są nietoksyczne dla komórek MDA-MB-231.

Podsumowując, w pracy A5 pokazaliśmy, że fototerapia przy użyciu badanych materiałów UCNPs z Fe₃O₄ jest bardzo skuteczna w kontekście samej indukcji ciepła. W połączeniu z właściwościami konwertującymi energię w górę otrzymaliśmy wielofunkcyjny nanokonstrukt nadający się do obrazowania (wykrywania nowotworów) i terapii poprzez fototerapię w zakresie optycznego okna biologicznego. Fakt ten jest istotną nowością i dużym interdyscyplinarnym osiągnięciem.

Podsumowanie

Moim osiągnięciem naukowym jest utworzenie nanocząstek wielofunkcyjnych o ulepszonych właściwościach fizykochemicznych o dużym znaczeniu praktycznym. Kluczowe właściwości fizyczne, które odgrywają istotną rolę w osiągnięciu to konwersja energii w górę [A1, A2, A3], właściwości magnetyczne [A4] oraz opto-magnetyczne [A5] w kontekście ich potencjalnych zastosowań w biologii i medycynie.

Przedstawione osiągnięcie naukowe obejmuje zbiór 5 artykułów opublikowanych w latach 2017-2024. Moje najważniejsze wyniki wnoszące znaczny wkład do wiedzy o właściwościach

fizykochemicznych nanomateriałów w kontekście ich potencjalnej aplikacji w biologii i medycynie można przedstawić w następujących punktach:

- Opracowałam metodę połączenia nanocząstek UCNPs z fotouczulaczem, Różem Bengalskim, polegającą na skróceniu odległości pomiędzy nanocząstką a barwnikiem [A1]. Zabieg ten spowodował, że wydajność FRET zachodzącego pomiędzy UCNPs a fotouczulaczem została zwiększona i zaobserwowano wydajną generację ROS pod wpływem światła NIR. Miało to bezpośrednie przełożenie na skuteczność eliminacji komórek nowotworowych zawierających w swoim wnętrzu nanocząstki i naświetlanych promieniowaniem o długości fali 980 nm.
- Wykorzystałam właściwość konwersji energii w górę UCNPs domieszkowanych jonami Tm^{3+} i Yb^{3+} z zakresu NIR do światła UV i niebieskiego do generowania ROS bezpośrednio z oddziaływania UV w środowisku wodnym [A2, A3]. Dzięki temu, zaobserwowano na tyle wydajną generację ROS po wpływie NIR, że umożliwiła ona eliminację komórek nowotworowych. Po przyłączeniu białka do powierzchni nanocząstek, możliwe było ich specyficzne ukierunkowanie do miejsca, do którego łączyło się znajdujące się na powierzchni przeciwciało.
- Otrzymałam nanocząstki Fe_3O_4 domieszkowane jonami Y^{3+} o ulepszonych właściwościach magnetycznych w porównaniu z nanocząstkami niedomieszkowanymi [A5]. Dzięki niewielkiej domieszce jonów Y^{3+} wartość magnetyzacji nanocząstek się zwiększa. Jest to spowodowane zajmowaniem miejsc tetraerycznych spinelu poprzez jony Y^{3+} , a w konsekwencji umiejscowienie jonów Fe^{3+} w miejscach oktaedrycznych. Dzięki temu uzyskałam znaczący wzrost szybkości zwiększenia temperatury wodnego roztworu nanocząstek Fe_3O_4 domieszkowanych 0.1% Y^{3+} w zmiennym polu magnetycznym, co przyczyniło się do zauważalnie skuteczniejszego efektu eliminacji komórek nowotworowych.
- Połączyłam nanocząstki UCNPs o właściwościach konwertujących energię w górę otoczone warstwą SiO_2-NH_2 z nanocząstkami Fe_3O_4 otoczonymi BMPA o właściwościach magnetycznych [A6]. Pokazałam, że takie nanocząstki generują wzrost temperatury po naświetleniu laserem 808 nm i 880 nm, co umożliwia ich zastosowanie w terapii fototermicznej. Jednocześnie, dzięki właściwościom konwersji energii w górę po pobudzeniu 980 nm, można je zastosować w obrazowaniu, bez autofluorescencji struktur biologicznych.

4.5. Omówienie drugiego osiągnięcia naukowego

• Wprowadzenie

Bardzo ważnym aspektem, który należy brać pod uwagę przy każdym etapie projektowania nowych materiałów do zastosowań biologicznych i medycznych jest ich toksyczność, akumulacja, biodystrybucja i interakcja z docelowym materiałem biologicznym.

Rozważając zastosowanie nanocząsteczek w badaniach biomedycznych, najważniejszym elementem decydującym o ich przydatności jest ich oddziaływanie ze składnikami komórkowymi, takimi jak błona komórkowa i organelle komórkowe. Informacje na temat mechanizmów ich internalizacji oraz szlaków wewnątrzkomórkowych aktywowanych przez obecność nanomateriałów są kluczowe dla szczegółowego zrozumienia tych interakcji. Oddziaływania te uwarunkowane są wielkością, kształtem, ładunkiem i właściwościami powierzchni nanomateriałów.⁵⁹

Głównym procesem stosowanym przez komórki do internalizacji nanocząsteczek jest endocytoza. Endocytoza to proces niezbędny do pobierania przez komórkę składników odżywczych. Proces ten może zachodzić z udziałem receptorów znajdujących się na powierzchni komórki lub bez nich. Endocytoza odgrywa także ważną rolę w regulacji metabolizmu, a także przenoszeniu informacji i cząsteczek w obrębie komórki lub do odległych tkanek.^{60,61} Nanocząsteczki skutecznie internalizowane przez endocytozę można potencjalnie wykorzystać do dostarczania środków obrazujących w celach diagnostycznych oraz leków w celach terapeutycznych.

Zrozumienie fizycznych i chemicznych interakcji między nanocząstkami a strukturami biologicznymi jest kluczem do odpowiedzi na następujące pytania: 1) co dzieje się z nanocząstkami po wprowadzeniu do systemów biologicznych, 2) czy poszczególne składniki biologiczne reagują z nanocząstkami, jeśli tak, to w jaki sposób oraz 3) czy i w jaki sposób nanocząstki mogą modulować procesy biologiczne? Kompleksowe badania dostarczające odpowiedzi na powyższe pytania zostały wykonane i opisane w pracach [B1](#), [B2](#) i [B3](#).

Tradycyjna klasyfikacja endocytozy ze względu na rodzaj pobranego materiału dzieli się na fagocytozę i pinocytozę. Fagocytoza dotyczy komórek takich jak makrofagi, monocyty, neutrofile czy komórki dendrytyczne. Natomiast pinocytoza występuje we wszystkich nefagocytarnych komórkach eukariotycznych. Endocytoza obejmuje cztery główne mechanizmy: endocytozę za pośrednictwem klatryny, endocytozę za pośrednictwem kaweoli (białko kaweoliny), endocytozę niezależną od klatryny i kaweoli oraz makropinocytozę. W zależności od rodzaju i wielkości nanocząsteczek preferowany jest inny szlak endocytozy.

Komórkowy wychwyt nanocząsteczek można postrzegać jako proces dwuetapowy: wiązanie nanocząsteczek z błoną komórkową, a następnie ich internalizacja. Na pierwszy etap największy wpływ mają właściwości fizykochemiczne nanocząsteczek, zwłaszcza ich ładunek powierzchniowy.⁶²

Mechanizm zaangażowany w internalizację UCNPs bezpośrednio wpływa na ich późniejszą lokalizację wewnątrzkomórkową. W związku z tym zrozumienie rozmieszczenia UCNPs i ich lokalizacji w organelach komórkowych, takich jak endosomy, lizosomy czy inne, jest niezbędne do opracowania skutecznego systemu dostarczania leku. Strategie takie opierają się na możliwości uwalniania leku w wyniku zmian pH środowiska, w którym występują nanocząsteczki.⁶³

Dostępne dane wskazywały, że nadal istnieje niewystarczająca ilość informacji na temat szczegółowych mechanizmów endocytarnych występujących dla tego typu nanocząstek. Głównym problemem jest niespójność wyników badań prowadzonych w różnych ośrodkach, odzwierciedlająca złożone interakcje pomiędzy nanomateriałami a układami biologicznymi, a także odmienne właściwości fizykochemiczne różnych typów nanocząsteczek.^{64,65,66,67,68,69,70} Wybór optymalnego eksperymentu do oceny tych interakcji jest niezwykle ważny. Należy rozważyć wybór linii komórkowej i wprowadzenie bardziej selektywnych inhibitorów endocytozy, a także dokładne oznaczenie ilościowe wewnątrzkomórkowej liczby nanocząsteczek i ich lokalizacji subkomórkowej. W takim układzie eksperymentalnym wysoce uzasadnione jest połączenie różnych technik fizykochemicznych stosowanych do oceny wychwytu nanocząsteczek i aktywacji specyficznych szlaków endocytozy.⁷¹

- **Opis szczegółowy**

W pracy B1 zbadano mechanizm internalizacji i cytotoksyczności UCNPs na trzech liniach komórkowych (HeLa, HEK293 i astrocyty). Nie zaobserwowano cytotoksyczności UCNPs nawet przy stosunkowo wysokich stężeniach UCNPs, do 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Mechanizm internalizacji UCNPs i ich dalszy los w komórkach badano za pomocą kolokalizacji widm emisyjnych UCNPs z widmami poszczególnych wybarwionych organelli z użyciem mikroskopii konfokalnej, a następnie wyniki potwierdzono za pomocą pomiarów TEM. Stwierdzono, że UCNPs wchodziły do komórek głównie w wyniku endocytozy za pośrednictwem klatryny. Natomiast ich wydalenie z komórek odbywało się na drodze egzocytozy lizosomalnej. Wyniki tego badania, skupiającego się na mechanizmach wychwytu komórkowego, lokalizacji i wydzielania UCNPs, po raz pierwszy wykazały kolokalizację UCNPs w odrębnych organellach komórkowych, co jest dużym osiągnięciem w kontekście zastosowań ich właściwości fizykochemicznych w biologii i medycynie.

W pracy B2 zbadano interakcje pomiędzy UCNPs a komórkami HeLa, w tym:

- Ocenę możliwości wychwytu UCNPs przez komórki i mechanizmów internalizacji komórkowej;
- Określenie lokalizacji subkomórkowej UCNPs wewnątrz komórek HeLa;
- Ocenę profilu cytotoksyczności UCNPs i zmian ultrastrukturalnych w komórkach HeLa po ekspozycji na UCNPs;
- Ocenę stresu oksydacyjnego w komórkach po ekspozycji na UCNPs.

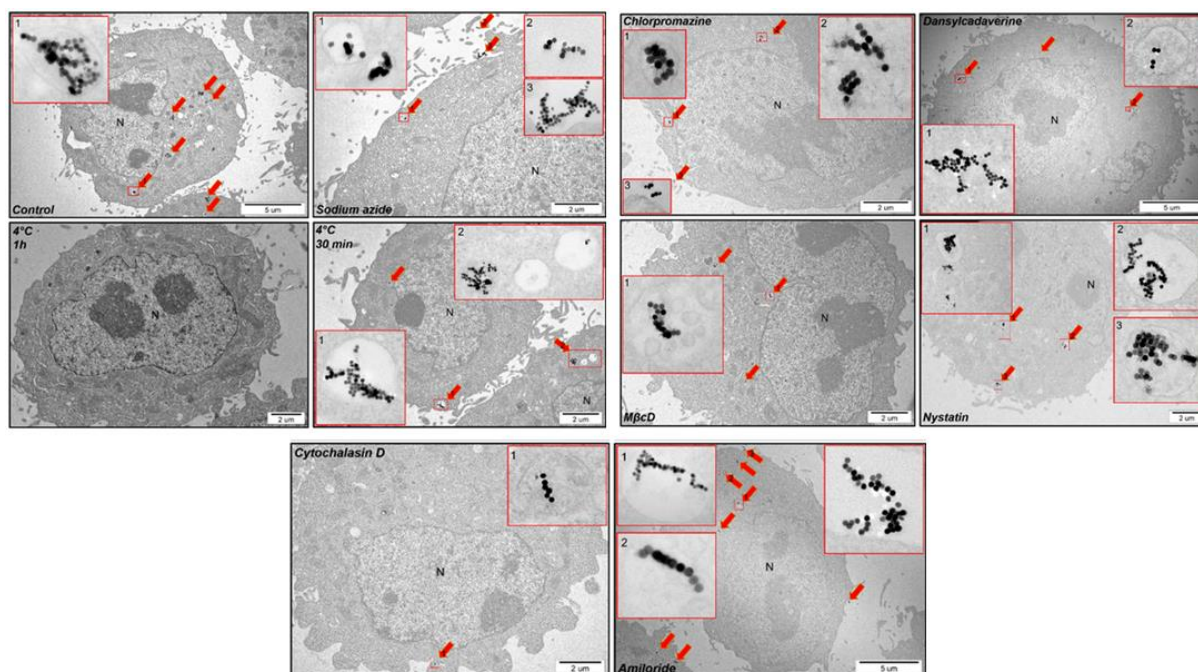
W literaturze opisywanych jest kilka metod badania transportu nanocząsteczek do komórek i regionów wewnątrzkomórkowych. Większość klasycznych podejść opiera się na blokowaniu określonego szlaku wejścia, określając w ten sposób jego wkład w internalizację nanocząsteczek przez komórkę. Do tych metod zalicza się: selektywne inhibitory farmakologiczne, interferencję RNA oraz całkowite lub przejściowe blokowanie ekspresji niezbędnych białek biorących udział w endocytozie.⁷²

Chemiczne inhibitory endocytozy są szeroko stosowane do badania szlaków endocytozy szczególnie zaangażowanych w internalizację nanomateriałów przez komórki. Ich działanie jest szybkie i często odwracalne po usunięciu inhibitora. Jednakże chemiczne inhibitory endocytozy często nie są w stanie całkowicie zablokować jednego szlaku endocytozy, a długotrwałe narażenie lub zbyt wysokie ich stężenie może wywołać toksyczność komórkową.^{73,74}

W pracy B2 zastosowano następujące inhibitory chemiczne:

- Amyloryd – blokowanie makropinocytozy
- Azydek sodu (NaN_3) – blokowanie prawie wszystkich szlaków endocytozy (procesów zależnych od energii)
- Chlorpromazyna - blokowanie endocytozy zależnej od klatryny
- Cytochalazyna D – blokowanie fagocytozy; makropinocytozy
- Dansylkadaweryna – blokowanie endocytozy zależnej od klatryny
- Metylo- β -cyklodekstryna (M β cD) - blokowanie endocytozy zależnej od kaweoliny / tratwy lipidowe
- Hipertoniczny roztwór sacharozy - blokowanie endocytozy zależnej od klatryny i kaweoliny
- Nystatyna - blokowanie endocytozy zależnej od kaweoliny
- 4°C - blokowanie prawie wszystkich szlaków endocytozy (procesów zależnych od energii)

Komórki HeLa eksponowano przez 30 minut na działanie inhibitorów procesu endocytozy lub niskiej temperatury (4°C), następnie inkubowano przez 2 godziny z UCNPs ($1 \mu\text{g ml}^{-1}$) lub eksponowano na działanie niskiej temperatury w obecności UCNPs przez 1 godzinę. Wyniki TEM pokazały, że w obecność każdego inhibitora spowodowała zmniejszenie ilości UCNPs wewnątrz komórek w porównaniu z komórkami kontrolnymi bez inhibitorów (Ryc. 14).



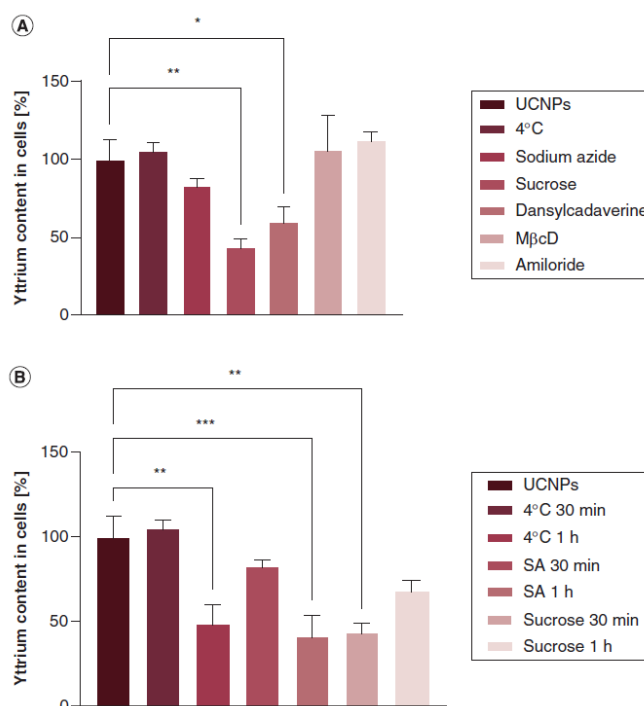
Ryc. 14. Zdjęcia TEM komórek HeLa z inhibitorami endocytozy i UCNPs. Czerwone strzałki wskazują UCNPs. M β cD: metylo- β -cyklodekstryna; N: jądro komórkowe.

W celu ilościowego oznaczenia wpływu inhibitorów danego szlaku endocytozy wykorzystano technikę spektrometrii mas sprzężonej z plazmą wzbudzaną indukcyjnie (ang. inductively coupled plasma – mass spectrometry, ICP-MS).

W tym celu komórki inkubowano z dodatkiem inhibitorów w temperaturze 37°C (warunki normalne) lub w niskiej temperaturze 4°C (w celu zahamowania wychwytu aktywnego) przez 30-60 minut przed dodaniem UCNPs. Ilość internalizowanych UCNPs (%) określono na podstawie procentowej zawartości Y w komórkach HeLa po 2 godzinach inkubacji z 1 µg ml⁻¹ UCNPs.

Wyniki po 30 minutach inkubacji z wybranymi inhibitorami wykazały, że internalizacja UCNPs została najskuteczniej zahamowana po ekspozycji komórek na hipertoniczny roztwór sacharozy, czyli inhibitora endocytozy zależnej od klatryny i kaweoli. Statystycznie istotny wpływ na zmniejszenie internalizacji UCNPs wykazała także dansylcadaweryna, odpowiedzialna za hamowanie transportu za pośrednictwem klatryny. Inkubacja z azydkiem sodu (inhibitor procesów zależnych od energii) zmniejszyła internalizację UCNPs o ~20% (Ryc. 15A).

W drugim eksperymencie komórki poddano działaniu wybranych inhibitorów przez dwukrotnie dłuższy czas (60 minut) przed podaniem nanocząstek, aby sprawdzić, czy ma to wpływ na obserwowane szybkości ich internalizacji. Po 60 minutach najskuteczniejsze hamowanie procesu endocytozy zaobserwowano w obecności roztworu azydku sodu (inhibitora metabolizmu) i pod wpływem niskiej temperatury. Co więcej, 1 godzina inkubacji komórek z UCNPs i w obecności roztworu sacharozy zmniejszyła internalizację o około 30% (Ryc. 15B).

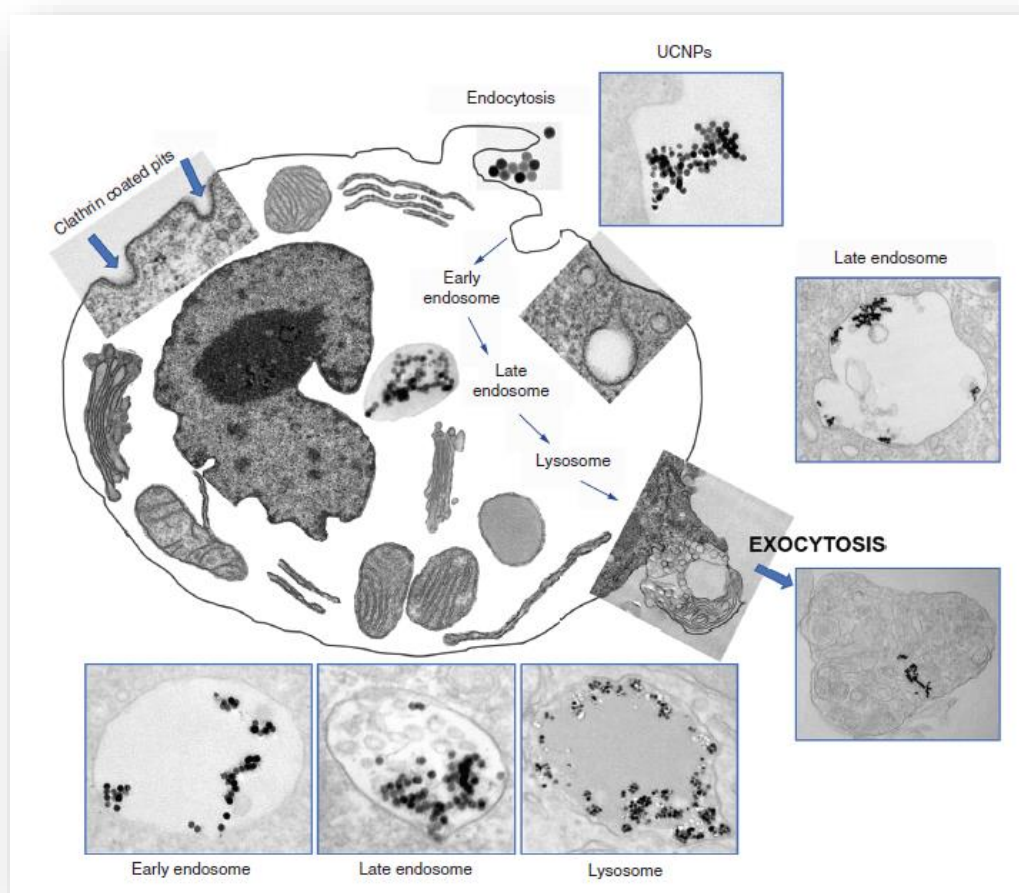


Ryc. 15. Wyniki ICP-MS UCNPs wprowadzonych do komórek po zastosowaniu inhibitorów. (A) Procent Y w komórkach eksponowanych na wybrane inhibitory endocytozy przez 30 minut przed inkubacją z UCNPs. * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$). (B) Procent Y w komórkach eksponowanych na wybrane inhibitory endocytozy przez 30 minut przed inkubacją z UCNPs lub przez 1 godzinę z inhibitorem i UCNPs. ** ($p < 0,01$); ***($p < 0,001$).

Zaproponowaliśmy dwa główne mechanizmy endocytozy, z udziałem klatryny i kaweoli. Nanocząsteczki obserwowano we wgłębieniach błony, wczesnych endosomach, późnych endosomach i lizosomach. Jest to charakterystyczne dla wewnątrzkomórkowego transportu

endocytarnego nanocząsteczek zamkniętych w pęcherzykach. Zaproponowaliśmy i udowodniliśmy endocytarny mechanizm internalizacji UCNPs i wewnątrzkomórkowego transportu endocytarnego wewnątrz komórek HeLa.

Po dodaniu UCNPs do komórek, w obszarach kontaktu UCNPs z błoną plazmatyczną powstały liczne wgłębienia. Następnie te fragmenty błony komórkowej wpuklały się do wnętrza cytoplazmy tworząc wewnątrzkomórkowe (endocytarne) pęcherzyki zawierające UCNPs. Wewnątrz komórki pęcherzyki łączyły się z wczesnymi endosomami znajdującymi się w pobliżu błony komórkowej. Wczesne endosomy transportowały UCNPs w głąb cytoplazmy do obszaru około-jądrowego. W tym regionie wczesne endosomy ulegały stopniowej transformacji w późne endosomy lub łączyły się z późnymi endosomami. Następnie późne endosomy po połączeniu się z lizosomami, przekazywały do nich UCNPs. Ostatecznie UCNPs były zwracane z powrotem do błony komórkowej i usuwane z komórek HeLa przez egzocytozę (Ryc. 16).



Ryc. 16. Schemat interakcji UCNPs z komórkami HeLa.

Brak widocznej toksyczności wskazuje, że UCNPs były dynamicznie pobierane i usuwane z komórek. Brak dowodów na akumulację nanocząstek w innych organelach komórkowych, np. mitochondriach, może sugerować brak istotnych zmian w funkcjach biologicznych związanych z metabolizmem komórkowym. Jest to ważny wynik dla przyszłego wykorzystania UCNPs, jako potencjalnego środka teranostycznego. Jednocześnie uzyskane wyniki wskazują,

że UCNPs nie kumulują się w cytoplazmie komórek, nawet podczas ich wewnątrzkomórkowego transportu czy usuwania. Wykluczone zostało także przenikanie UCNPs przez błonę komórkową na drodze transportu biernego, co jest istotną informacją w kontekście ich kontrolowanego dostarczania. Dotychczas opublikowano jedynie kilka badań dotyczących mechanizmu endocytozy i wewnątrzkomórkowej obecności UCNPs.⁷⁵

Przy obecnym stanie wiedzy w omawianych pracach B1 i B2 po raz pierwszy przedstawiono tak szczegółowe badania dotyczące transportu UCNPs do wnętrza żywych komórek i ich subkomórkowej wizualizacji w ich wnętrzu z użyciem metody TEM. Do tej pory lokalizację UCNPs dokumentowano głównie za pomocą technik mikroskopii fluorescencyjnej lub konfokalnej.^{76,77,78,79}

Badania te mogą znacząco przyczynić się do opracowania nowych, wysoce funkcjonalnych nanomateriałów UCNPs o bardzo dobrych właściwościach optycznych i niskim wskaźniku cytotoksyczności. Ma to bezpośredni wpływ na ich potencjalne zastosowanie w biomedycynie. Możliwość zaprojektowania i wykorzystania wielofunkcyjnych, bezpiecznych nanosystemów do obrazowania biologicznego pozwoli na wprowadzenie rewolucyjnych rozwiązań w diagnostyce i leczeniu. Między innymi, tego rodzaju UCNPs mogą być w przyszłości cennym materiałem w diagnostyce chorób związanych z centralnym układem nerwowym.

Badania dotyczące zastosowania nanomateriałów w leczeniu chorób układu nerwowego obejmują coraz większą liczbę zagadnień.^{80,81} Główne zastosowania nanotechnologii do leczenia zaburzeń neurorozwojowych, neurologicznych i neuropsychiatrycznych obejmują zastosowanie nanocząsteczek lub nanonośników do dostarczania leków lub terapii genowej; zastosowanie nanotechnologii do rekonstrukcji, wzmocnienia i stabilizacji macierzy cytoszkieletu; wytwarzanie urządzeń biohybrydowych do transportu różnych związków; oraz powlekanie elektrod nanocząsteczkami.⁸²

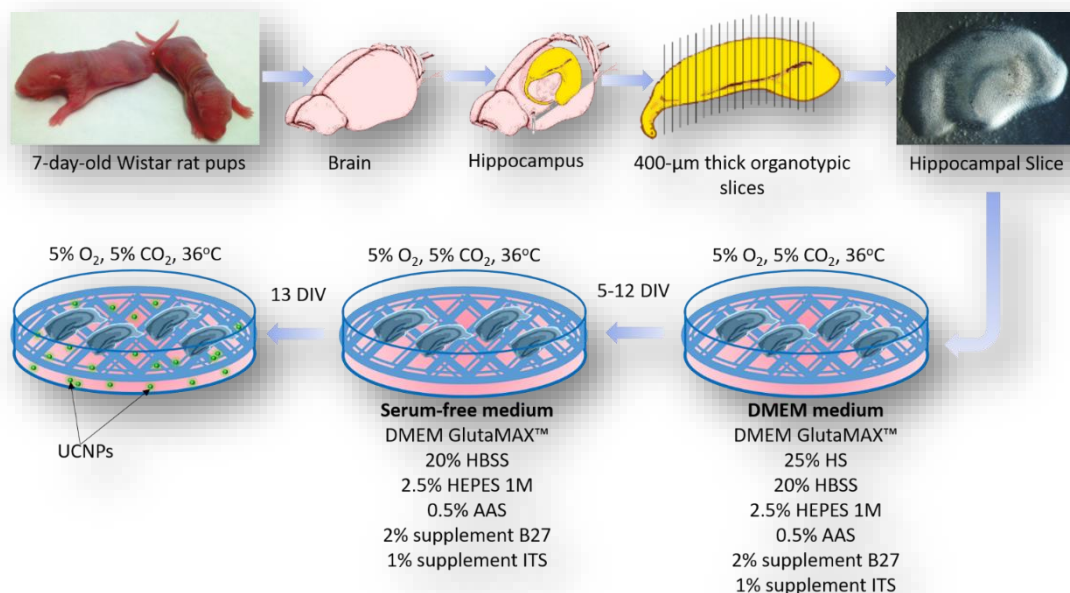
Organotypowe hodowle skrawków mózgu są cennym narzędziem do badania procesów fizjologicznych i farmakologicznych substancji w tkankach, mechanizmów komórkowych i molekularnych leżących u podstaw zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN) oraz oceny potencjalnych metod leczenia chorób OUN.⁸³ Stosowanie modeli tkanek wydaje się doskonałym krokiem pośrednim między hodowlą komórkową a testami na żywych organizmach. Ponadto zaletą stosowania modeli skrawków mózgu do badań *in vitro* jest to, że zachowują one architekturę i mikrośrodowisko tkanek. Model ten pozwala na obserwację zmian wywołanych przez nanomateriały w tkankach i testowanie nowych strategii terapeutycznych. Obszarem mózgu, który jest najczęściej hodowany, jest hipokamp.⁸³ Model organotypowych kultur skrawków hipokampa (ang. Organotypic Hippocampal Slice Cultures, OHSC) często wykorzystuje się do badania uszkodzeń neuronów, plastyczności synaptycznej, proliferacji i dojrzewania komórek. Zrozumienie mechanizmów internalizacji nanocząsteczek i ich wpływu na morfologię tkanki ma kluczowe znaczenie dla opracowania nowych terapii, które można modelować z użyciem tkanki hipokampa. Projektowanie i otrzymywanie nanocząsteczek do dostarczania leków do mózgu w kontrolowany sposób mogłoby poprawić skuteczność terapii mózgowych.^{83,84}

Celem badań w pracy B3 była ocena interakcji biologicznych pomiędzy UCNPs a modelem OHSC *ex vivo*, w tym:

- Określenie możliwości internalizacji UCNPs przez komórki nerwowe

- Ocena cytotoksyczności i analiza zmian ultrastrukturalnych tkanki po ekspozycji na UCNPs.

Aby potwierdzić internalizację UCNPs przez komórki nerwowe przeprowadzono analizę TEM hodowli *ex vivo* organotypowych skrawków hipokampa. Hipokampy użyte w doświadczeniach wyizolowano od 7-dniowych szczurów. Proces izolacji został zatwierdzony przez IV Lokalną Komisję Etyki ds. Opieki nad Zwierzętami (decyzja nr 39/2015) i stosowany zgodnie ze wskazaniem Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Ryc. 17).



Ryc. 17. Schemat eksperymentu z użyciem UCNPs i skrawków OHSC.

Wyniki TEM potwierdziły obecność dużych skupisk UCNPs zamkniętych wewnątrz struktur pęcherzykowych obecnych w neuronach. UCNPs znajdowały się we wczesnych i późnych endosomach, wewnątrz lizosomów i w dużych autofagolizosomach. Podobnie jak we wcześniej badanym modelu *in vitro*, nie zaobserwowano UCNPs w cytoplazmie komórek ani wewnątrz innych organelli komórkowych. Wskazuje to, że UCNPs były transportowane do wnętrza komórek w procesie endocytozy.

Wyniki sugerują, że OHSC mogą stać się skutecznym modelem do testowania różnych strategii terapeutycznych chorób neurologicznych z wykorzystaniem nanostruktur. Wysokie oczekiwania w zakresie możliwości obrazowania mózgu przy użyciu UCNPs przypisuje się ich unikalnym właściwościom konwertującym energię w górę. Ze względu na te właściwości, możliwe może być obrazowanie głębszych warstw w żywej tkance mózgowej. Dodatkowo badany materiał (zatopiony w żywicy epoksydowej fragment plastra) poddano kilkukrotnemu przycinaniu w celu potwierdzenia obecności i rozmieszczenia UCNPs w głębszych obszarach skrawków. Pozwoliło to stwierdzić, że UCNPs są nie tylko dynamicznie internalizowane przez komórki, ale także transportowane do innych regionów w głąb skrawka. Co więcej, pomiędzy przestrzeniami wokół komórek gromadziły się duże aglomeraty niezinternalizowanych UCNPs. W literaturze nie były dostępne dane z mikroskopu elektronowego, umożliwiające dogłębną ocenę morfologii OHSC poddanych działaniu nanomateriałów. Brakowało także informacji na temat wewnątrzkomórkowej lokalizacji nanocząsteczek w skrawkach. Nieliczne

badania potwierdzające obecność nanocząsteczek w OHSC za pomocą TEM dotyczyły kropek kwantowych biofunkcjonalizowanych peptydem Palm1 (CL4 QD-Palm1).⁸⁵ Inne badania dotyczyły właściwości neuroprotekcyjnych nanocząstek CeO₂,⁸⁶ czy lokalizacji nanocząstek Ag w cytoplazmie neuronów.⁸⁷

Zaproponowaliśmy i udowodniliśmy endocytny mechanizm internalizacji UCNPs i wewnątrzkomórkowego transportu endocytarnego wewnątrz skrawków OHSC, zastosowanych jako przykład tkanek nerwowych.

Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, że UCNPs są łatwo internalizowane przez komórki hipokampa. Biodystrybucja UCNPs wewnątrz komórek była ściśle powiązana z dynamiką procesów wewnątrz komórki i predyspozycją UCNPs do lokalizacji jedynie w określonych organellach wewnątrzkomórkowych, takich jak endosomy i lizosomy. Model ten może być przydatny do badania biodystrybucji UCNPs w tkankach oraz oceny zmian morfologicznych i ultrastrukturalnych spowodowanych obecnością nanomateriałów.

Wyniki pokazane w pracach [B1](#), [B2](#) i [B3](#) pokazały, że każdy etap analizy powinien obejmować szczegółowe badania w celu wyeliminowania ryzyka toksyczności nanomateriałów, szczególnie w zastosowaniach klinicznych. Nanocząsteczki należy dokładnie scharakteryzować i szczegółowo zbadać w układach biologicznych na każdym etapie projektowania eksperymentu. Jednocześnie uzyskane wyniki stanowią istotny aspekt biologicznego obrazowania *ex vivo* fragmentów tkanek z wykorzystaniem unikalnych właściwości konwertujących energię w górę UCNPs.

Podsumowanie

Moim osiągnięciem naukowym jest ustalenie mechanizmu oddziaływania pomiędzy nieorganicznymi nanocząstkami UCNPs a materiałem biologicznym (komórki oraz tkanki).

Przedstawione osiągnięcie naukowe obejmuje zbiór 3 artykułów opublikowanych w latach 2017-2024. Moje najważniejsze wyniki wnoszące znaczny wkład do wiedzy o właściwościach fizykochemicznych nanomateriałów w kontekście ich potencjalnej aplikacji w biologii i medycynie można przedstawić w następujących punktach:

- Wykorzystując technikę TEM, IC-PMS, oraz mikroskopię konfokalną określiłam mechanizm internalizacji UCNPs przez komórki Hela oraz tkanki hipokampa szczura [[B1](#), [B2](#), [B3](#)]. Zaproponowanym mechanizmem jest endocytoza za pośrednictwem klatryny i kaweoli.
- Określiłam lokalizację nanostruktur w endosomach i lizosomach we wszystkich badanych komórkach (komórkach HeLa [[B1](#), [B2](#)] i komórkach nerwowych [[B1](#), [B3](#)], przy braku cytotoksyczności nawet przy stosunkowo wysokich stężeniach (do 500 µg ml⁻¹) oraz długich czasach inkubacji (do 48h).

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

5.1. Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii

W ramach pracy magisterskiej, którą wykonywałam na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, zbadałam aktywność antyoksydacyjną siedmiu neuroprzekaźników (dopaminy, adrenaliny, noradrenaliny, L-DOPA, kwasu γ -aminomasłowego, kwas glutaminowego i acetylocholino) w roztworach homo- i heterogenicznych. Praca polegała na pomiarze stałych szybkości reakcji z modelowym rodnikiem 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowym (dpph^{*}) oraz pomiarach szybkości autooksydacji emulsji lipidowych. Uzyskane wyniki wykazały, że kinetyka reakcji katecholamin z rodnikami silnie zależy od pH.

Zgodnie z przewidywaniami stałe szybkości reakcji rodnika dpph^{*} z neurotransmiterami katecholaminowymi (dopamina, adrenalina, noradrenalina, L-DOPA) w układach woda-metanol wzrastały około stukrotnie wraz ze zmianą pH z 5,5 do 7,4. Takie przyspieszenie reakcji jest spowodowane zwiększeniem stężenia anionów fenolanowych biorących udział w reakcji z dpph^{*}. Zaobserwowane zjawisko można wyjaśnić udziałem mechanizmu SPLET (ang. Sequential Proton-Loss Electron-Transfer), polegającego na dysocjacji fenoli i przeniesieniu elektronu od anionu fenolanowego do rodnika.

W układach emulsyjnych, gdy autooksydacja jest inicjowana azozwiązkiem, katecholaminy zachowują się jak umiarkowane antyoksydanty (retardanty), natomiast w obecności 2,2,5,7,8-pentametylo-6-hydroksychromanu (PMHC, analog α -tokoferolu) stwierdzono silny efekt synergistyczny między katecholaminami a PMHC. Efekt ten był najsilniejszy w pH 6-8 i może być wytłumaczony procesem regeneracji antyoksydanta rozpuszczonego w fazie lipidowej przez koantyoksydanty (katecholaminy) rozpuszczalne w fazie wodnej.

Pomiary szybkości pochłaniania tlenu wykonano także dla kilku neuroprzekaźników niekatecholaminowych (acetylocholina, kwas glutaminowy, GABA), jednak nie wykazały one właściwości antyoksydacyjnych. Dla tych substancji nie zaobserwowano silnego efektu synergistycznego w połączeniu z PMHC.

Podsumowując, w pracy zaproponowano antyoksydacyjny mechanizm działania neuroprzekaźników katecholaminowych.

Uzyskane wyniki były częścią dwóch publikacji. Jednej, która ukazała się w roku 2009 [[P16](#) – wykaz publikacji w pkt. 7.1], a druga ukazała się w roku 2022 [[P2](#)].

5.2. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Laboratory of Physics of Complex Matter (LPMC), Institute of Condensed Matter Physics (ICMP), Faculty of Basic Sciences (FBS), Lausanne, Szwajcaria

W ramach dwóch tygodniowych szkoleń: „LLP-Erasmus Programme Individual training. Programme for Staff training mobility. Academic year 2012/2013” oraz „LLP-Erasmus Programme Individual training. Programme for Staff training mobility. Academic year 2013/2014.” w EPFL w Szwajcarii przeprowadziłam eksperymenty mające na celu charakteryzację nanocząstek NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺,Gd³⁺. Do badania wydajności

fotodynamicznej i własności magnetycznych nanocząsteczek $\text{NaYF}_4:\text{Er}^{3+},\text{Yb}^{3+}$ oraz $\text{NaGd}_x\text{Y}_{1-x}:\text{Er}^{3+},\text{Yb}^{3+}$, wykorzystałam technikę spektroskopii Elektronowego Rezonansu Paramagnetycznego (EPR). Mój pobyt w Szwajcarii zaowocował długoletnią współpracą z Prof. Andrzejem Sienkiewiczem. A uzyskane wyniki zostały opublikowane w 2017 roku i stanowią część publikacji wchodzącej w skład osiągnięcia habilitacyjnego [B1].

W trakcie pobytu na EPFL przeprowadziłam także eksperymenty generacji reaktywnych form tlenu przez nanocząstki $\text{NaYF}_4:\text{Er}^{3+},\text{Yb}^{3+}$ w obecności fotouczulaczy (m.in. Róż Bengalski) pod wpływem promieniowania podczerwonego z zastosowaniem techniki EPR. Eksperymenty te były podstawą mojej dalszej pracy w IFPAN, co zaowocowało powstaniem pracy wchodzącej w skład osiągnięcia habilitacyjnego [A1].

Wykonałam dodatkowo eksperymenty pochłaniania nanocząsteczek $\text{NaGd}_x\text{Y}_{1-x}:\text{Er}^{3+},\text{Yb}^{3+}$ przez rośliny wodne, w szczególności przez *Vallisneria spiralis*. Praca ta miała na celu wykrycie obecności nanocząsteczek $\text{NaGd}_x\text{Y}_{1-x}:\text{Er}^{3+},\text{Yb}^{3+}$ w liściach tej rośliny po wprowadzeniu jej korzeni do roztworu nanocząstek. Do badań zastosowano technikę EPR (w EPFL) oraz optyczną mikroskopie konfokalną (w IF PAN). Zbadałam także wydajność fotodynamiczną w modelowych roślinach wodnych za pomocą techniki EPR.

5.3. Instituto de Física, Nfficleo de Fsica Aplicada Universidade de Brasília, oraz Depto de Genética e Morfologia CNANO - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília

W 2016 roku przebywałam na dwóch stażach w Brazylii w ramach grantu EU Research Project FP7-People-2012-IRSES-BRASINOEU (Project Number: PIRSES-GA-2012-318916).

W ramach stażu wykonałam pierwsze pomiary hipertermii magnetycznej nanocząstek Fe_3O_4 oraz nanohybryd składających się z nanocząstek konwertujących energię w górę UCNP's oraz magnetycznych nanocząstek Fe_3O_4 zamkniętych w kapsułce SiO_2 , które wcześniej wykonałam w IF PAN. Pomiary wykonałam za pomocą hipertermii firmy Nan Thericts. W ramach stażu uczestniczyłam w budowie systemu do jednoczesnego pomiaru zmian temperatury pod wpływem zmiennego pola magnetycznego oraz właściwości optycznych. Wiedzę zdobytą podczas tych eksperymentów wykorzystałam do zaplanowania i wykonania pomiarów opublikowanych w pracy wchodzącej w skład mojego osiągnięcia habilitacyjnego [A4].

W ramach mojego pobytu na Uniwersytecie w Brazylii, we współpracy z grupą prof. Paulo Eduardo Narcizo de Souza zmierzyłam ROS generowane z nanocząstek $\text{NaYF}_4:0.2\%\text{Tm}^{3+},20\%\text{Yb}^{3+}$, wykazujących intensywną luminescencję w zakresie UV, niebieskim, czerwonym oraz NIR pod wpływem naświetlania laserem 980 nm. W tym celu wodny roztwór nanocząsteczek zmieszałam z pułapką spinową 1-hydroksy-3-metoksykarbonylo-2,2,5,5-tetrametylopirolidyną (CMH), która daje sygnał EPR po reakcji w wolnymi rodnikami. Sygnał EPR mierzyłam, co dziesięć minut naświetlania. Zaobserwowałam 70% wzrost sygnału EPR po 20 minutach naświetlania. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w pracy A2 wchodzącej w skład osiągnięcia habilitacyjnego.

W Instytucie Biologii UNB uczestniczyłam w pilotażowych eksperymentach użycia nanocząstek z przyłączonym fotouczulaczem SPCD do ich powierzchni w terapii przeciwnowotworowej z użyciem komórek nowotworowych 4T1 oraz myszy BALB/c (w

wieku 8 tygodni) z indukowanym nowotworem piersi (4T1). Wzrost guza monitorowano za pomocą bioluminescencji w IVIS® Lumina LT In Vivo Imaging System. Po 17 dniach od zastosowania nanocząstek i napromieniowania laserem 980 nm, zaobserwowano zmniejszenie szybkości wzrostu guza myszy traktowanych UCNPs w porównaniu do myszy bez UCNPs.

5.4. Uniwersytet Warszawski, Wydział Fizyki

We współpracy z Wydziałem Fizyki UW wypromowałam szereg prac licencjackich, magisterskich i inżynierskich.

W 2016 roku została wykonana praca licencjacka *„Badanie transferu energii między barwnikami organicznymi przyłączonymi do powierzchni nanostruktur („anten”) a nanocząstkami up-konwertującymi w celu poprawienia wydajności up-konwersji do zastosowania w biologii i medycynie”*. Celem pracy była optymalizacja wydajności kwantowej konwersji energii w górę nanocząstek UCNPs za pomocą transferu energii. Do osiągnięcia zamierzonych celów użyto barwników organicznych, które służyły, jako „anten” dla światła NIR. Barwnik organiczny został połączony z zakapsułkowanymi w SiO₂ nanocząstkami NaYF₄:2%Er³⁺,20%Yb³⁺ wiązaniem kowalencyjnym. Aby sprawdzić czy transfer pomiędzy barwnikiem, a nanocząstkami zaszedł wykonano widma luminescencji przy użyciu lasera 808 i 980 nm.

W tym samym roku powstała praca magisterska *„Badanie transferu energii z nanocząstek up-konwertujących NaYF₄ domieszkowanych jonami ziem rzadkich do wybranych fotouczulaczy oraz generowania reaktywnych form tlenu w celu zastosowania w biologii i medycynie”*. W ramach pracy do nanocząstek UCNPs przyłączono dwa fotouczulacze: SPCD i HP. Zbadano transfer energii z nanocząstek do fotouczulacza i generowanie ROS po naświetlaniu laserem 980 nm. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń otrzymano także nanotermometry spektrofotometryczne z nanocząstek UCNPs.

W 2017 roku została wykonana praca licencjacka *„Synteza i charakteryzacja nanocząstek Fe₃O₄ na potrzeby hipertermii magnetycznej”*. W ramach przeprowadzonych badań zsyntetyzowano oraz scharakteryzowano próbki nanocząstek tlenku żelaza domieszkowanych jonami itru. Przeprowadzono pomiar hipertermii magnetycznej, który wykazał wzrost temperatury dla każdej z próbek, natomiast najlepsze wyniki uzyskano dla 0.1%Y³⁺. Wyniki stały się częścią publikacji [A4](#) wchodzącej w osiągnięcie habilitacyjne.

W tym samym roku powstała praca magisterska *„Optymalizacja nanocząstek optomagnetycznych UCNPs&SPIONs@SiO₂ o właściwościach up-konwertujących do zastosowań w biologii i medycynie”*, w której przeprowadzono optymalizację wielofunkcyjnych nanokonstruktów o właściwościach opto-magnetycznych, składających się z NaYF₄:20%Yb³⁺,2%Er³⁺ oraz Fe₃O₄ w otoczce SiO₂. Analiza absorpcji oraz luminescencji umożliwiła zbadanie wpływu obecności Fe₃O₄ na właściwości konwertujące energię w górę otrzymanych nanokonstruktów.

W 2018 roku wypromowałam pracę magisterską *„Wielofunkcyjne nanocząstki o właściwościach up-konwertujących światło podczerwone do światła widzialnego oraz down-konwertujących do światła podczerwonego po pobudzeniu laserem 808 nm – synteza, charakteryzacja i zastosowanie”*. Celem pracy było zaprojektowanie, synteza,

charakteryzacja i zastosowanie nanocząstek NaYF_4 lub NaGdF_4 domieszkowanych jonami ziem rzadkich (Nd^{3+} , Yb^{3+} , Er^{3+}) łączących właściwości konwertujące w górę światło podczerwone do światła widzialnego oraz konwertujące w dół do światła podczerwonego po pobudzeniu laserem 808 nm. W tym celu utworzono szereg próbek nanocząstek z różnymi ilościami domieszek, w których zoptymalizowana została wydajność konwersji światła podczerwonego 808 nm oraz mechanizmy odpowiedzialne za ten proces. Nanocząstki zostały scharakteryzowane, a następnie wybrano najlepszą próbkę do zastosowania w mysich komórkach nowotworowych piersi 4T1 do ich zobrazowania za pomocą lasera 808 nm. Wyniki zostały porównane z obrazowaniem nanocząstek za pomocą lasera 980 nm oraz została określona głębokość penetracji dla obu laserów.

Drugim celem pracy magisterskiej było zastosowanie barwników organicznych, działających jako „anten” światła podczerwonego o długości fali niższej niż 980 nm, a wykazujące luminescencje przy tej długości fali (980 nm), do poprawy wydajności konwersji energii w górę UCNPs. W tym celu do powierzchni UCNPs został dołączony barwnik organiczny i został zbadany mechanizm transferu energii z tego barwnika do nanocząstek.

W 2023 roku wypromowałam pracę inżynierską *„Synteza i charakteryzacja nanocząstek konwertujących energię w górę do zastosowań w biologii i medycynie”*, w której otrzymano nanocząstki typu rdzeń-powłoka-powłoka. Rdzeniem nanocząstek były UCNPs, zdolne do konwersji energii w górę. W pierwszej z powłok składającej się z SiO_2 zamknięto fotouczulacz, błękit metylenowy. Druga powłoka SiO_2 pozwala na dalszą funkcjonalizację struktur. W części eksperymentalnej przeprowadzono analizę morfologiczną oraz pierwiastkową. Zbadano także właściwości optyczne cząstek, ich zdolność do generacji reaktywnych form tlenu, a także przeprowadzono badania *in vitro* na komórkach nowotworowych HeLa. Wyniki są w tej chwili uzupełniane i będą opublikowane w najbliższym czasie.

5.5. Politechnika Warszawska, Wydział Fizyki

W 2019 roku wypromowałam we współpracy z Wydziałem Fizyki PW pracę magisterską *„Właściwości opto-magnetyczne i optymalizacja syntezy wybranych nanocząstek wielofunkcyjnych do zastosowań w terapii nowotworów”*. Celem pracy było zaprojektowanie, synteza oraz charakteryzacja nanocząstek wielofunkcyjnych łączących właściwości optyczne nanocząstek NaYF_4 domieszkowanych różną parą jonów ziem rzadkich: iterbem i erbem lub iterbem i tulem, z właściwościami magnetycznymi nanocząstek Fe_3O_4 do zastosowań w diagnostyce i terapii nowotworowej. W tym celu wykonano niezależnie szereg próbek nanocząstek $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Er}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$ (UCNPs), a także magnetycznych Fe_3O_4 , a następnie połączono je trzema sposobami. Pierwszym sposobem wytworzenia struktury wielofunkcyjnej było stworzenie otoczki magnetycznej wokół optycznego rdzenia (UCNPs@SPIONs), drugim sposobem było wytworzenie otoczki optycznej wokół magnetycznego rdzenia (SPIONs@UCNPs). Ostatnią metodą było otoczenie nanocząstki NaYF_4 warstwą SiO_2 , do której kowalencyjnie przyłączono nanocząstki Fe_3O_4 (UCNPs-SPIONs). Wszystkie typy wytworzonych nanostruktur scharakteryzowano przez pomiary TEM, SEM, XRD, SQUID oraz pomiary właściwości

optycznych. Następnie określono, który sposób syntezy nanocząstek rdzeń-otoczka daje nanocząstki o najlepszej wydajności konwersji w górę oraz najlepszej magnetyzacji.

5.6. Wyższa Szkoła Inżynierii i Zdrowia

W latach 2023/2024 wypromowałam sześć prac inżynierskich na kierunku chemia kosmetyczna w Wyższej Szkole Inżynierii i Zdrowia (WSliZ). Wszystkie te prace zostały zrealizowane na WSliZ pod moim kierunkiem.

Na szczególną uwagę zasługuje praca *„Zastosowanie nanocząstek srebra w kosmetykach przeznaczonych do codziennej pielęgnacji skóry oraz ich zastosowanie w łagodzeniu objawów chorób dermatologicznych”*. W pracy skupiliśmy się na zbadaniu wpływu nanocząstek srebra (AgNPs) na mikrobiom oraz ogólny stan skóry. Podczas badań udowodniono, że emulsja z zawartością AgNPs wykazuje znaczący wpływ na wzrost i rozwój bakterii pobranych z powierzchni skóry osób badanych poprzez istotne zahamowanie wzrostu mikroorganizmów w hodowli mikrobiologicznej. Badanie to potwierdziło tezę o właściwościach antybakteryjnych AgNPs. Kolejną właściwością udowodnioną podczas badań emulsji z AgNPs jest wpływ na zwiększenie nawilżenia skóry poprzez dodatek AgNPs do emulsji kosmetycznej. Praca ma istotny wpływ na rozwój dziedziny. Zawiera praktyczny aspekt, zastosowania właściwości nanocząstek srebra w produkcie kosmetycznym, w zastosowaniu nawilżającym i antybakteryjnym. Wyniki po uzupełnieniu zostaną jak najszybciej opublikowane.

Kolejna praca, która zostanie opublikowana, to *„Opracowanie i analiza właściwości emulsji z liposomalną kurkumina”*. Celem pracy było opracowanie emulsji kosmetycznej zawierającej liposomalną kurkumina i zbadanie jej wpływu na skórę. W tym celu opracowano dwa rodzaje emulsji, jedną bez składnika aktywnego, a drugą zawierającą liposomalną kurkumina. Po zbadaniu właściwości fizykochemicznych emulsji (pH, gęstość, itp.) zbadano poziom nawilżenia skóry oraz stopień jej zaczerwienienia. Uzyskane wyniki potwierdziły wpływ liposomów na wzrost poziomu nawilżenia i redukcję poziomu zaczerwienienia u badanych probantów. Praca stanowi dobrą podstawę do rozwijania tematyki liposomów oraz ich wykorzystania, jako nośników substancji czynnych.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.

6.1. Działalność dydaktyczna

2022	Promotor pomocniczy doktoratu „ <i>Właściwości up-konwertujących nanocząstek i ich zastosowanie w terapii fotodynamicznej</i> ” w Instytucie Fizyki PAN
2022	Promotor pomocniczy doktoratu „ <i>Ocena funkcjonalności i cytotoksyczności luminescencyjnych nanocząstek $\text{NaYF}_4\cdot\text{Yb}^{3+}$, Er^{3+} do zastosowań bio-medycznych</i> ” w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN realizowanego częściowo w IF PAN.
Od 2014	Opieka nad jeszcze 2 doktorantami, którzy są w trakcie realizacji prac doktorskich (promotorstwo pomocnicze)
2023	Promotor 6 prac inżynierskich na kierunku Chemia Kosmetyczna zrealizowanych i obronionych na Wyższej Szkole Inżynierii i Zdrowia: „ <i>Zastosowanie nanocząstek srebra w kosmetykach przeznaczonych do codziennej pielęgnacji skóry oraz ich zastosowanie w łagodzeniu objawów chorób dermatologicznych</i> ”, „ <i>Opracowanie i analiza właściwości emulsji z liposomalną kurkumina</i> ”, „ <i>Wykorzystanie właściwości optycznych i antybakteryjnych nanocząstek w farbach do włosów</i> ”, „ <i>Badanie właściwości olejku Brahmi oraz jego przykładowe zastosowanie w kosmetykach do włosów</i> ”, „ <i>Kosmetyki naturalne w opinii konsumenta</i> ”, „ <i>Nanotechnologiczne modyfikacje ekstraktu z Centella Asiatica (L.) w kontekście przemysłu kosmetycznego</i> ”.
2023	Współpromotor pracy inżynierskiej „ <i>Synteza i charakteryzacja nanocząstek konwertujących energię w górę do zastosowań w biologii i medycynie</i> ” zrealizowanej w IF PAN a obronionej na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego
2019	Współpromotor pracy magisterskiej „ <i>Właściwości opto-magnetyczne i optymalizacja syntezy wybranych nanocząstek wielofunkcyjnych do zastosowań w terapii nowotworów</i> ” zrealizowanej w IF PAN a obronionej na Wydziale Fizyki Politechniki Warszawskiej
2018	Współpromotor pracy magisterskiej „ <i>Wielofunkcyjne nanocząstki o właściwościach up-konwertujących światło podczerwone do światła</i> ”

	widzialnego oraz down-konwertujących do światła podczerwonego po pobudzeniu laserem 808 nm - synteza, charakteryzacja i zastosowanie” zrealizowanej w IF PAN a obronionej na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego
2017	Współpromotor pracy magisterskiej „ <i>Optymalizacja nanocząstek opto-magnetycznych UCNPs&SPIONs@SiO₂ o właściwościach up-konwertujących do zastosowań w biologii i medycynie</i> ” zrealizowanej w IF PAN a obronionej na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego
2017	Współpromotor pracy licencjackiej „ <i>Synteza i charakteryzacja nanocząstek Fe₃O₄ na potrzeby hipertermii magnetycznej</i> ” zrealizowanej w IFPAN a obronionej na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego
2016	Współpromotor pracy magisterskiej „ <i>Badanie transferu energii z nanocząsteczek up-konwertujących NaYF₄ domieszkowanych jonami ziem rzadkich do wybranych fotouczulaczy oraz generowania reaktywnych form tlenu w celu zastosowania w biologii i medycynie</i> ” zrealizowanej w IF PAN a obronionej na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego
2016	Współpromotor pracy licencjackiej „ <i>Badanie transferu energii między barwnikami organicznymi przyłączonymi do powierzchni nanostruktur ("anteny"), a nanocząstkami up-konwertującymi w celu poprawienia wydajności up-konwersji do zastosowania w biologii i medycynie</i> ” zrealizowanej w IFPAN a obronionej na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego
2023	Prowadzenie wykładów „ <i>Nanobiotechnology</i> ” w języku angielskim dla doktorantów w Instytucie Fizyki PAN
Od 2017	Prowadzenie wykładów i ćwiczeń: „ <i>Modelowanie i projektowanie procesów technologicznych</i> ”, „ <i>Fizyka</i> ”, „ <i>Chemia Kwantowa</i> ”, „ <i>Chemia Fizyczna</i> ” dla studentów studiów stacjonarnych i zaocznych na kierunku Chemia Kosmetyczna, Chemia Ogólna i Technologia Kosmetyku w Wyższej Szkole Inżynierii i Zdrowia w Warszawie
Od 2009	Prowadzenie praktyk studenckich (dwutygodniowych, miesięcznych i dwumiesięcznych) w IF PAN w okresie wakacyjnym
2012	Organizacja i prowadzenie dwudniowych warsztatów dla studentów trzeciego roku Biofizyki UAM w ramach promowania Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 1.1.2 „ <i>Kwantowe nanostruktury półprzewodnikowe do zastosowań w biologii i medycynie – rozwój i komercjalizacja nowej generalizacji urządzeń diagnostyki molekularnej</i> ”

	<i>opartych o nowe polskie przyrządy półprzewodnikowe” dotyczących syntezy nanocząstek i obrazowania wybarwionych komórek w mikroskopie konfokalnym</i>
2009-2010	Prowadzenie warsztatów (Krajowy Fundusz na rzecz Dzieci) w IF PAN

6.2. Działalność organizacyjna

od 2023	Członek Rady Naukowej IF PAN na kadencję 2023–2026 , członek Komisji ds. Adiunktów i Asystentów a także Komisji ds. Strategii Rozwoju Instytutu.
od 2017	Kierownik tematu statutowego w IF PAN „ <i>Synteza pasywowanych nanostruktur biosensorycznych</i> ”
2016	Organizacja dwóch sesji na konferencji EMRS (19-22.09.2016): Nanomaterials, nanostructures and nano-devices (B) Bioinspired and biointegrated materials as frontiers nanomaterials VI: Session 3.1 "Nanostructures at Surfaces, in Films, and Nanoparticles Fundamentals and Functions" Session 3.2 "Nanotechnology, Fundamentals, and Functions Nanoparticles and Nanostructures"

6.3. Działalność popularyzatorska

2015	Napisałam artykuł popularnonaukowy „ <i>W walce z nowotworem pomocą nanocząsteczki i światło podczerwone</i> ” we współpracy z A. Kowalik, P. Kowalik, D. Elbaum, S. Góźdź, opublikowany w czasopiśmie dla pacjentów onkologicznych w Świętokrzyskim Centrum Onkologii (nr2/2015, maj 2015 AMICUS).
2015	Prowadzenie zajęć podczas dnia otwartego w Instytucie Fizyki PAN
2013	Prowadzenie lekcji pokazowych w Instytucie Fizyki PAN w ramach akcji Popularyzacji Fizyki dla nauczycieli i uczniów szkół średnich

7. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze

7.1. Wykaz publikacji niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Lp.	Autorzy, tytuł publikacji, czasopismo, rok wydania, tom, strony	Impact Factor ¹	Liczba Cytowań ²
P1	A. Borodziuk, K. Sulowska, Ł. Zinkiewicz, M. Szymura, A. Reszka, A. Bogucki, B. Sikora , S. Maćkowski, Ł. Kłopotowski “ <i>Interaction with Silver Nanowires Disrupts the Excitation Pathways in Upconverting Nanoparticles</i> ” J Phys Chem. C 2022, 126(45), 19219-19228	3.700	2
P2	K. Jodko-Piórecka, B. Sikora , M. Kluzek, P. Przybylski, G. Litwinienko, “ <i>Antiradical Activity of Dopamine, L-DOPA, Adrenaline, and Noradrenaline in Water/Methanol and in Liposomal Systems</i> ” J Org Chem 2022, 87(3), 1791-1804	3.600	14
P3	I. Kamińska, A. Wosztyl, P. Kowalik, B. Sikora , T. Wojciechowski, K. Sobczak, R. Minikayev, K. Zajdel, M. Chojnacki, W. Zaleszczyk, K. Łysiak, W. Paszkowicz, J. Szczytko, M. Baniewicz, W. Stryczniewicz and Krzysztof Fronc “ <i>Synthesis and characterization of Gd₂O₃: Er³⁺, Yb³⁺ doped with Mg²⁺, Li⁺ ions—effect on the photoluminescence and biological applications</i> ” Nanotechnology 2021, 32, 245705	3.953	6
P4	A. Borodziuk, M. Baranowski, T. Wojciechowski, R. Minikayev, B. Sikora , D. K. Maude, P. Plochocka, and Łukasz Kłopotowski “ <i>Excitation efficiency determines the upconversion luminescence intensity of β-NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺ nanoparticles in magnetic fields up to 70 T</i> ” Nanoscale 2020, 12, 20300-20307	7.790	12
P5	I. Kamińska, D. Jankowski, B. Sikora , P. Kowalik, R. Minikayev, T. Wojciechowski, M. Chojnacki, K. Sobczak, J. Rybusiński, J. Szczytko, K. Zajdel, A. Suchocki, W. Paszkowicz, M. Frontczak-Baniewicz, K. Fronc “ <i>Structural, optical and magnetic properties of Y_{3-0.02-x}Er_{0.02}Yb_xAl₅O₁₂ (0<x<0.20) nanocrystals: effect of Yb content</i> ” Nanotechnology 2020, 31, 225711	3.874	7
P6	I. Kamińska, D. Elbaum, B. Sikora , P. Kowalik, J. Mikulski, Z. Felcyn, P. Samol, T. Wojciechowski, R. Minikayev, W. Paszkowicz, W. Zaleszczyk, M. Szewczyk, A. Konopka, G. Gruzel, M. Pawlyta, M. Donten, K. Cizak, K. Zajdel, M. Frontczak-Baniewicz, P. Stępień, M. Łapiński, G. Wilczyński, K. Fronc „ <i>Single-step synthesis of Er³⁺ and Yb³⁺ ions doped molybdate/Gd₂O₃ core-shell nanoparticles for biomedical imaging</i> ” Nanotechnology 2018, 29, 025702	3.399	12
P7	J. Mikulski, B. Sikora , K. Fronc, P. Aleshkevych, S. Kret, J. Suffczyński, J. Papierska, Ł. Kłopotowski and J. Kossut “ <i>Synthesis and magnetooptic characterization of Cu-doped ZnO/MgO and ZnO/oleic acid core/shell nanoparticles</i> ” RSC Adv 2016, 6, 44820-44825	3.108	8

* - autor korespondencyjny

¹zgodnie z rokiem publikacji

²wg Web of Science z dnia 16.04.2024

Lp.	Autorzy, tytuł publikacji, czasopismo, rok wydania, tom, strony	Impact Factor ¹	Liczba Cytowań ²
P8	I. Kaminska, K. Fronc, B. Sikora , M. Mouawad, A. Siemiarczuk, M. Szewczyk, K. Sobczak, T. Wojciechowski, W. Zaleszczyk, R. Minikayev, W. Paszkowicz, P. Stępień, P. Dziawa, K. Ciszak, D. Piątkowski, S. Mackowski, M. Kaliszewski, M. Włodarski, J. Młynczak, K. Kopczynski, M. Łapinski and D. Elbaum “ <i>Upconverting/magnetic: Gd₂O₃:(Er³⁺, Yb³⁺, Zn²⁺) nanoparticles for biological applications: effect of Zn²⁺ doping</i> ” RSC Adv 2015, 5, 78361-78373	3.289	32
P9	B. Sikora* , K. Fronc, I. Kamińska, K. Koper, M. Chwastyk, P. Stępień, W. Paszkowicz, T. Wojciechowski, K. Sobczak, D. Elbaum “ <i>Fluorescence resonance energy transfer between ZnO/MgO/carboxymethyl-b-cyclodextrin and Nile Red in HeLa cells – biosensing applications</i> ” RSC Adv 2015, 5, 1323-1330	3.289	3
P10	I. Kamińska, K. Fronc, B. Sikora , K. Koper, R. Minikayev, W. Paszkowicz, K. Sobczak, T. Wojciechowski, M. Chwastyk, A. Reszka, B. J. Kowalski, P. Stępień, D. Elbaum “ <i>Synthesis of ZnAl₂O₄:(Er³⁺, Yb³⁺) spinel type nanocrystalline upconverting luminescent marker in HeLa carcinoma cells, using a combustion aerosol method route</i> ” RSC Adv 2014, 4, 56596-56604	3.840	25
P11	B. Sikora* , K. Fronc, I. Kaminska, K. Koper, S. Szewczyk, B. Paterczyk, T. Wojciechowski, K. Sobczak, R. Minikayev, W. Paszkowicz, P. Stępień, D. Elbaum “ <i>Transport of NaYF₄:Er³⁺, Yb³⁺ up-converting nanoparticles into HeLa cells</i> ” Nanotechnology 2013, 24, 235702	3.672	25
P12	B. Sikora* , K. Fronc, I. Kamińska, K. Koper, P. Stępień, D. Elbaum “ <i>Luminescence of colloidal ZnO nanoparticles synthesized in alcohols and biological application of ZnO passivated by MgO</i> ” J Phys: Condens Matter 2013, 25, 194104	2.223	12
P13	I. Kamińska, B. Sikora , K. Fronc, P. Dziawa, K. Sobczak, R. Minikayev, W. Paszkowicz, D. Elbaum “ <i>Novel ZnO/MgO/Fe₂O₃ composite optomagnetic nanoparticles</i> ” J Phys: Condens Matter 2013, 25, 194104	2.223	7
P14	B. Sikora* , K. Fronc, I. Kaminska, A. Baranowska-Korczyc, K. Sobczak, P. Dłużewski, D. Elbaum „ <i>The growth kinetics of colloidal ZnO nanoparticles in alcohols</i> ” Journal of Sol-Gel Science and Technology 2012, 61, 197-205	1.660	19
P15	A. Baranowska-Korczyc, A. Reszka, K. Sobczak, B. Sikora , P. Dziawa, J. Bujak, M. Aleszkiewicz, Ł. Kłopotowski, W. Paszkowicz, P. Dłużewski, B. J. Kowalski, T. A. Kowalewski, M. Sawicki, D. Elbaum, K. Fronc „ <i>Magnetic Fe doped ZnO nanofibers obtained by electrospinning</i> ” Journal of Sol-Gel Science and Technology 2012, 61, 494-500	1.660	28
P16	K. Jodko, E. Kowalewska, B. Sikora , G. Litwinienko, “ <i>Studies on the synergistic effects of PMHC (an analogue of vitamin E) and selected catecholamines in the context of neurodegenerative</i> ” Free Radical Research 2009, 43, 58-58.	2.215	0

* - autor korespondencyjny

¹zgodnie z rokiem publikacji

²wg Web of Science z dnia 16.04.2024

7.2. Wykaz patentów niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Lp.	Autorzy, tytuł
D1	Patent nr. P.401873 „Sposób wytwarzania nanoproszków o własnościach luminescencyjno-magnetycznych oraz nanoparoszek wytworzony tym sposobem” autorstwa Izabeli Kamińskiej, Krzysztofa Fronca, Bożeny Sikory , Danka Elbauma, przyznany w 2014 roku

7.3. Recenzje prac naukowych

- Wydawnictwo Tygiel (2019)
- Acta Physica Polonica (2019)
- Advanced Science (2019)
- Nanotechnology (2015, 2018)
- Journal of Alloys and Compounds (2010, 2011)

7.4. Granty

Kierownik w projekcie SONATA 8 Narodowego Centrum Nauki „*Synteza wielofunkcyjnych nanocząstek up-konwertujących oraz badanie mechanizmów generowania reaktywnych form tlenu z nanocząstek w obecności fotouczulaczy i ich oddziaływania z materiałami biologicznymi*” (numer projektu: DEC-2014/15/D/ST5/02604)

PostDoc w projekcie MAESTRO 4 Narodowego Centrum Nauki „*Magnetyczne półprzewodnikowe kropki kwantowe z miedzią*” (numer projektu: UMO-2013/08/A/ST3/00297)

Wykonawca w projekcie „*Rozwój klastra Centrum Inżynierii Biomedycznej*” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (numer projektu: UDA-POIG.05.01.00-00)

Wykonawca w projekcie OPUS 4 Narodowego Centrum Nauki „*Spinele (Zn,Mg)Al₂O₄ jako markery up-konwertujące komórek nowotworowych: otrzymywanie, właściwości i mechanizmy fizyczne przekazów energii i ich funkcjonalizacja biologiczna*” (numer projektu: DEC-2012/07/B/ST5/02080)

Wykonawca w projekcie „*Kwantowe nanostruktury półprzewodnikowe do zastosowań w biologii i medycynie – rozwój i komercjalizacja nowej generacji urządzeń diagnostyki molekularnej opartych o nowe polskie przyrządy półprzewodnikowe*” realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka w latach 2007-2013 (numer projektu: POIG.01.01.02-00-008/08)

7.5. Staże zagraniczne

10-12.2016	Staż dwumiesięczny w Brazylii w Depto de Genética e Morfologia CNANO - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília. Rodzaj pobytu: Praca naukowo-badawcza (badania nanotechnologiczne i biomedyczne) w ramach grantu EU Research Project FP7-People-2012-IRSES-BRASINOEU (numer projektu: PIRSES-GA-2012-318916)
03-05.2016	Staż dwumiesięczny w Brazylii w Instituto de Física, Nffleco de Física Aplicada Universidade de Brasília. Rodzaj pobytu: Praca naukowo-badawcza (badania nanotechnologiczne i biomedyczne) w ramach grantu EU Research Project FP7-People-2012-IRSES-BRASINOEU (numer projektu: PIRSES-GA-2012-318916)
04-05.2015	Staż miesięczny w Wuhan (Chiny) w School of Automation, Huazhong University of Science and Technology. Rodzaj pobytu: Praca naukowo-badawcza (badania nanotechnologiczne i magnetyczne) w ramach projektu EU Research Project EP7-People-2012-IRSES-BRASINOEU (numer projektu: PIRSES-GA-2012-318916)
10-15.08.2014	Tygodniowy staż w Lausanne (Szwajcaria) w Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Laboratory of Physics of Complex Matter (LPMC), Institute of Condensed Matter Physics (ICMP), Faculty of Basic Sciences (FBS). Rodzaj pobytu: Praca naukowo-badawcza (pomiar ROS za pomocą EPR) w ramach „LLP-Erasmus Programme Individual training. Programme for Staff training mobility. Academic year 2013/2014.”
09-12.12.2012	Tygodniowy staż w Lausanne (Szwajcaria) w Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Laboratory of Physics of Complex Matter (LPMC), Institute of Condensed Matter Physics (ICMP), Faculty of Basic Sciences (FBS). Rodzaj pobytu: Praca naukowo-badawcza (pomiar EPR nanocząstek domieszkowanych jonami gadolinu) w ramach „LLP-Erasmus Programme Individual training. Programme for Staff training mobility. Academic year 2012/2013.”

7.6. Wykłady zaproszone

25-28.09.2019	Lithuania - Poland Workshop on Physics and Technology w Wilnie, Litwa Tytuł wykładu: <i>“Biofunctionalized multifunctional nanoconstructs based upconverting NaYF₄ doped rare earth and magnetic Fe₃O₄ nanoparticles for theranostic applications.”</i>
06-07.12.2016	II Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular, Universidade de Brasília w Brazylii Tytuł wykładu: <i>“Multifunctional opto-magnetic NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺,Gd³⁺ & Fe₃O₄@SiO₂ nanoconstructs - towards biomedical applications”</i>
19-22.09.2016	E-MRS Fall Meeting Conference w Warszawie, Polska Tytuł wykładu: <i>„Multifunctional opto-magnetic NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺,Gd³⁺ & Fe₃O₄@SiO₂ nanoconstructs – towards biomedical applications”</i>
06-10.12.2015	Konferencja Surface Modification for Chemical and Biochemical Sensing SMCBS 2015 w Pultusku, Polska Tytuł wykładu: <i>„Opto-magnetic nanoparticles for biomedical applications”</i>
25-27.06.2015	7 Krajowa Konferencja Nanotechnologii w Poznaniu, Polska Tytuł wykładu: <i>„Multifunctional opto-magnetic nanoconstructs based on up-conversion rare ions – doped NaYF₄ and superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles – towards novel theranostic anticancer agents”</i>
11-15.05.2015	Konferencja E-MRS Spring Meeting 2015 w Lille, Francja Tytuł wykładu: <i>„Multifunctional magnetic and photo-luminescent NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺,Gd³⁺ - based nanoconstructs – towards novel theranostic anticancer agents”</i>
04-05.03.2015	Konferencja Nauka dla Przemysłu Tytuł wykładu: <i>“Wielofunkcyjne nanocząstki – nadzieja współczesnej teranostyki antynowotworowej”</i>

7.7. Ustne komunikaty konferencyjne

29.11.2023	Nomaten Winterschool 2023 w Otwocku, Polska Tytuł wykładu: <i>“Multifunctional opto-magnetic nanoparticles with upconverting properties - designing, synthesis and applications in cancer diagnostic”</i>
12-14.04.2023	11th International Congress Nanotechnology in Biology & Medicine, Graz, Austria Tytuł wykładu: <i>„The NaYF₄:Yb,Tm@SiO₂ upconverting Nanoparticles for Photodynamic Therapy Application”</i>
26.09.2022	2nd International Research and Practice Conference Nanoobjects & Nanostructuring, Lwów, Ukraina, online Tytuł wykładu: <i>„The NaYF₄:Yb,Tm@SiO₂ upconverting nanoparticles for photodynamic therapy application”</i>
15-17.04.2019	1st World Nanotechnology Conference 2019 w Dubaju, Zjednoczone Emiraty Arabskie Tytuł wykładu: <i>„Multifunctional nanoconstructs based up-converting NaYF₄ doped rare earth”</i>
05-10.09.2016	Konferencja YOUCOMAT 2016 w Herceg Novi, Montenegro Tytuł wykładu: <i>“Multifunctional opto-magnetic NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺,Gd³⁺&Fe₃O₄@SiO₂ nanoconstructs - towards biomedical applications”</i>
13-16.09.2016	Konferencja COST Action MP1302 Nanospectroscopy Topical Meeting on Nanoparticles Synthesis, Assembly, Characterization and Applications w Warszawie, Polska Tytuł wykładu: <i>“Multifunctional opto-magnetic nanoparticles for theranostic applications”</i>
23-25.05.2016	1st Conference and Spring School on Properties, Design and Applications of Upconverting Nanomaterials we Wrocławiu, Polska Tytuł wykładu: <i>„Multifunctional opto-magnetic nanoparticles for theranostic applications”</i>
09-11.12.2015	The Fourteenth Young Researchers' Conference Materials Sciences and Engineering w Belgradzie, Serbia Tytuł wykładu: <i>„Multifunctional opto-magnetic nanoparticles for theranostic applications”</i>

07-08.05.2014	VI Konferencja Kwantowe Nanostruktury Półprzewodnikowe do Zastosowań w Biologii i Medycynie w Warszawie, Polska Tytuł wykładu: <i>"Zaprojektowanie i scharakteryzowanie biosensorów opartych na koloidalnych nanocząstkach do zastosowań w biologii i medycynie"</i>
16-20.09.2013	E-MRS Fall Meeting Conference w Warszawie, Polska Tytuł wykładu: <i>„Multifunctional NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺,Gd³⁺ nanoparticles in cancer imaging and photodynamic cancer therapy”</i>
10-16.02.2013	V Zimowe Warsztaty Biofizyczne Zakładu Biofizyki Molekularnej Wydziału Fizyki UAM w Siennej - Czarnej Górze, Polska Tytuł wykładu: <i>"Koloidalne nanocząstki i ich zastosowania w biologii i medycynie"</i>
18-19.04.2012	IV Konferencja Kwantowe Nanostruktury Półprzewodnikowe do Zastosowań w Biologii i Medycynie w Warszawie, Polska Tytuł wykładu: <i>„Projektowanie biosensorów półprzewodnikowych do zastosowań w biologii i medycynie”</i>
29-04.02.2012	IV Zimowe Warsztaty Biofizyczne Zakładu Biofizyki Molekularnej Wydziału Fizyki UAM w Siennej - Czarnej Górze, Polska Tytuł wykładu: <i>„Strategie projektowania biosensorów opartych na nanocząstkach półprzewodnikowych”</i>
09-13.05.2011	VII Ogólnopolskie Studenckie Seminarium Naukowo-Technologiczne BIOMEDITECH w Spocie, Polska Tytuł wykładu: <i>„Właściwości i zastosowanie nanocząstek ZnO i ZnO/MgO core/shell w biologii i medycynie”</i>
12-17.04.2010	VI Ogólnopolskie Studenckie Seminarium Naukowo-Technologiczne BIOMEDITECH w Poznaniu, Polska Tytuł wykładu: <i>„Właściwości i zastosowanie nanocząstek ZnO i ZnO/MgO core/shell otrzymywanych metodą sol-gel”</i>
13-14.04.2010	II Konferencja Kwantowe Nanostruktury Półprzewodnikowe do Zastosowań w Biologii i Medycynie, Warszawa, Polska Tytuł wykładu: <i>"Biosensoryczne właściwości ZnO"</i>

Dodatkowo od 2010 roku przedstawiałam wyniki w formie plakatów na licznych międzynarodowych konferencjach. Wygłosiłam także 11 seminariów zaproszonych w Polsce i za granicą.

7.8. Certyfikaty

2024	Certyfikat z obsługi multispektralnej analizy skóry LumiScan Instytucja wydająca: Synergy Medical Company sp. z o.o. Certyfikat uprawnia do wykonywania analizy skóry przy użyciu urządzenia LumiScan gen 3.0
2024	Certyfikat „Good Clinical Practice” Instytucja wydająca: NIDA Clinical Trials Network Certyfikat ukończenia 6-godzinnego kursu na temat dobrej praktyki klinicznej.
2023	Certyfikat ukończenia szkolenia z zakresu obsługi urządzeń do badania skóry, produkowanych przez Courage + Khazaka electronic GmbH Instytucja wydająca: Eprus Sp. z o.o. Certyfikat uprawnia do wykonywania analizy skóry przy użyciu urządzenia Courage + Khazaka electronic GmbH
2022	Certyfikat Google Data Analytics Specialization Instytucja wydająca: Coursera Certyfikat potwierdzający ukończenie ośmiu kursów opracowanych przez Google na poziomie wprowadzającym w Data Analytics. Potwierdza kompetencje w posługiwaniu się arkuszami kalkulacyjnymi, SQL, Tableau i R. Potwierdza uzyskanie wiedzy, jak przygotowywać, przetwarzać, analizować i udostępniać dane w celu podejmowania przemysłowych działań.

7.9. Nagrody

- Nagroda za najlepsze wystąpienie „*Multifunctional opto-magnetic nanoparticles for theranostic applications*” na konferencji The Fourteenth Young Researchers' Conference Materials Sciences and Engineering w Belgradzie (Serbia) **09-11.12.2015**
- Wyróżnienie za prezentację wyników w formie plakatu „ *β -NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺,Gd³⁺ up-converting nanoparticles: potential diagnosis and treatment tools for cancer disease*” na konferencji The International Conference EMRS Fall Meeting 2013 w Warszawie, **15-18.09.2014**
- Wyróżnienie za prezentację wyników w formie plakatu „*Multifunctional up-converting NaYF₄:Er³⁺,Yb³⁺,Gd³⁺ nanoparticles for applications in biology and medicine*” na konferencji 17th International Conference on luminescence and optical spectroscopy of condensed matter we Wrocławiu, **13-18.07.2014**

- Praca Doktorska "Zaprojektowanie i scharakteryzowanie biosensorów opartych na koloidalnych nanocząsteczkach do zastosowań w biologii i medycynie" wyróżniona przez Radę Naukową Instytutu Fizyki PAN oraz nagrodzona nagrodą dyrektora w 2014r.
- Złoty medal w konkursie INNOWACJE 2011 za „Opracowanie technologii otrzymywania spineli upkonwertujących $ZnAl_2O_4$ domieszkowanych pierwiastkami ziem rzadkich tj. Er^{3+} , Yb^{3+} metodą syntezy aerozolowej dla zastosowań biomedycznych” autorstwa I. Kamińska, K. Fronc, B. Sikora, A. Baranowska-Korczyk, K. Sobczak, A. Reszka, T. Wojciechowski, W. Paszkowicz, K. Koper, G. Wilczyński, J. Włodarczyk, A. Szczepankiewicz, P. Stępień, B. J. Kowalski, D. Elbaum na 7. Targach Techniki Przemysłowej, Nauki i Innowacji "Technicon Innowacje" w Gdańsku

Spis cytowanej literatury

- ¹ A. P. Castano, P. Mroz, M. R. Hamblin „Photodynamic therapy and anti-tumour immunity” *Nat. Rev. Cancer* 2006, **6**, 535
- ² M. Rajendran „Quinones as photosensitizer for photodynamic therapy: ROS generation, mechanism and detection methods” *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2016, **13**, 175
- ³ T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng „Photodynamic Therapy” *JNCI: J. Natl Cancer Inst.* 1998, **90**, 889
- ⁴ M. Triesscheijn, P. Baas, J. H. M. Schellens, F. A. Stewart „Photodynamic Therapy in Oncology” *The Oncologist* 2006, **11(9)**, 1034
- ⁵ J. F. Lovell, T. W. Liu, J. Chen, G. Zheng „Activatable Photosensitizers for Imaging and Therapy” *Chem. Rev.* 2010, **110**, 2839
- ⁶ J. P. Celli, B. Q. Spring, I. Rizvi, C. L. Evans, K. S. Samkoe, S. Verma, B. W. Pogue, T. Hasan „Imaging and Photodynamic Therapy: Mechanisms, Monitoring, and Optimization” *Chem. Rev.* 2010, **110(5)**, 2795
- ⁷ S. S. Lucky, K. C. Soo, Y. Zhang „Nanoparticles in Photodynamic Therapy” *Chem. Rev.* 2015, **115(4)**, 1990
- ⁸ R. Weissleder „A clearer vision for *in vivo* imaging” *Nature Biotechnology*, 2001, **19**, 316
- ⁹ F. Zhang „*Photon Upconversion Nanomaterials*” (Berlin: Springer) 2015 **vol 416**
- ¹⁰ A. Punjabi, X. Wu, A. Tokatli-Apollon, M. El-Rifai, H. Lee, Y. Zhang, C. Wang, Z. Liu, E. M. Chan, C. Duan, G. Han „Amplifying the Red-Emission of Upconverting Nanoparticles for Biocompatible Clinically Used Prodrug-Induced Photodynamic Therapy” *ACS Nano* 2014, **8(10)**, 10621
- ¹¹ M. Haase, H. Schäfer „Upconverting Nanoparticles” *Angewandte Chemie Int. Edn* 2011, **50**, 5808
- ¹² S. Chen, A. Z. Weitemier, X. Zeng, L. He, X. Wang, Y. Tao, A. J. Y. Huang, Y. Hashimoto, M. Kano, H. Iwasaki, L. K. Parajuli, S. Okabe, D. B. L. Teh, A. H. All, I. Tsutsui-Kimura, K. F. Tanaka, X. Liu, T. J. McHugh „Near-infrared deep brain stimulation via upconversionnanoparticle-mediated optogenetic” *Science* 2018, **359(6376)**, 679
- ¹³ H. Ow, D. R. Larson, M. Srivastava, B. A. Baird, W. W. Webb, U. Wiesner „Bright and Stable Core-Shell Fluorescent Silica Nanoparticles” *Nano Lett.* 2005, **5(1)**, 113
- ¹⁴ L. M. Rossi, L. Shi, F. H. Quina, Z. Rosenzweig „Stöber Synthesis of Monodispersed Luminescent Silica Nanoparticles for Bioanalytical Assays” *Langmuir* 2005, **21(10)**, 4277
- ¹⁵ A. Gnach, T. Lipinski, A. Bednarkiewicz, J. Rybka, J. A. Capobianco „Upconverting nanoparticles: assessing the toxicity” *Chem. Soc. Rev.* 2015, **44**, 1561
- ¹⁶ O. S. Wolfbeis „An overview of nanoparticles commonly used in fluorescent bioimaging” *Chem. Soc. Rev.* 2015, **44**, 4743
- ¹⁷ H. Qiu, M. Tan, T. Y. Ohulchanskyy, J. F. Lovell, G. Chen „Recent Progress in Upconversion Photodynamic Therapy” *Nanomaterials* 2018, **8(5)**, 344
- ¹⁸ Y. Wang, K. Liu, X. Liu, K. Dohnalova, T. Gregorkiewicz, X. Kong, M. C. Aalders, W. J. Buma, H. Zhang „Critical Shell Thickness of Core/Shell Upconversion Luminescence Nanoplatfor for FRET Application” *J. Phys. Chem. Lett.* 2011, **2**, 2083

- ¹⁹ Drugbank online <https://go.drugbank.com/drugs/DB11182>
- ²⁰ M. C. DeRosa, R. J. Crutchley „Photosensitized singlet oxygen and its applications” *Coordination Chem. Rev.* 2002, **233**, 351
- ²¹ R. W. Redmond, J. N. Gamlin „A Compilation of Singlet Oxygen Yields from Biologically Relevant Molecules” *Photochem. Photobiol.* 1999, **70**, 391
- ²² T. Sabri, P. D. Pawelek and J. A. Capobianco „Dual Activity of Rose Bengal Functionalized to Albumin-Coated Lanthanide-Doped Upconverting Nanoparticles: Targeting and Photodynamic Therapy” *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2018, **10**, 26947
- ²³ K. Liu, X. Liu, Q. Zeng, Y. Zhang, L. Tu, T. Liu, X. Kong, Y. Wang, F. Cao, S. A. G. Lambrechts, M. C. G. Aalders, H. Zhang „Covalently Assembled NIR Nanoplatform for Simultaneous Fluorescence Imaging and Photodynamic Therapy of Cancer Cells” *ACS Nano* 2012, **6**, 4054
- ²⁴ F. Wang, X. Liu „Recent advances in the chemistry of lanthanide-doped upconversion nanocrystals” *Chem. Soc. Rev.* 2009, **38**, 976
- ²⁵ J. C. Boyer, L. A. Cuccia and J. A. Capobianco „Synthesis of Colloidal Upconverting NaYF₄: Er₃/Yb₃ and Tm₃/Yb₃ Monodisperse Nanocrystals” *Nano Lett.* 2007, **7**, 847
- ²⁶ S. Melle, O. G. Calderón, M. Laurenti, D. Mendez-Gonzalez, A. Egatz-Gómez, E. López-Cabarcos, E. Cabrera-Granado, E. Díaz, J. Rubio-Retama „Förster Resonance Energy Transfer Distance Dependence from Upconverting Nanoparticles to Quantum Dots” *J. Phys. Chem. C* 2018, **122**(32), 18751
- ²⁷ D. K. Chatterjee, Z. Yong „Upconverting nanoparticles as nanotransducers for photodynamic therapy in cancer cells” *Nanomedicine* 2008, **3**, 73
- ²⁸ M. T. Jarvi, M. S. Patterson, B. C. „Wilson Insights into Photodynamic Therapy Dosimetry: Simultaneous Singlet Oxygen Luminescence and Photosensitizer Photobleaching Measurements” *Biophys. J.* 2012, **102**, 661
- ²⁹ Z. Hou, Y. Zhang, K. Deng, Y. Chen, X. Li, X. Deng, Z. Cheng, H. Lian, C. Li, J. Lin „UV-Emitting Upconversion-Based TiO₂ Photosensitizing Nanoplatform: Near-Infrared Light Mediated in Vivo Photodynamic Therapy via Mitochondria-Involved Apoptosis Pathway” *ACS Nano* 2015, **9**, 2584
- ³⁰ L. Zeng, Y. Pan, Y. Tian, X. Wang, W. Ren, S. Wang, G. Lu, A. Wu „Doxorubicin-loaded NaYF₄:Yb/Tm–TiO₂ inorganic photosensitizers for NIR-triggered photodynamic therapy and enhanced chemotherapy in drug-resistant breast cancers” *Biomaterials* 2015, **57**, 93
- ³¹ S. S. Lucky, N. M. Idris, Z. Li, K. Huang, K. C. Soo, Y. Zhang „Titania Coated Upconversion Nanoparticles for Near-Infrared Light Triggered Photodynamic Therapy” *ACS Nano* 2015, **9**, 191
- ³² L. Zhang, L. Zeng, Y. Pan, S. Luo, W. Ren, A. Gong, X. Ma, H. Liang, G. Lu, A. Wu „Inorganic photosensitizer coupled Gd-based upconversion luminescent nanocomposites for in vivo magnetic resonance imaging and near-infrared-responsive photodynamic therapy in cancers” *Biomaterials* 2015, **44**, 82
- ³³ M. Yin, E. Ju, Z. Chen, Z. Li, J. Ren, X. Qu „Upconverting Nanoparticles with a Mesoporous TiO₂ Shell for Near-Infrared-Triggered Drug Delivery and Synergistic Targeted Cancer Therapy” *Chem. Eur. J.* 2014, **20**, 14012
- ³⁴ Q. Q. Dou, A. Rengaramchandran, S. T. Selvan, R. Paulmurugan, Y. Zhang „Core – shell upconversion nanoparticle – semiconductor heterostructures for photodynamic therapy” *Sci. Rep.* 2015, **5**, 8252
- ³⁵ U. B. Nielsen, D. B. Kirpotin, E. M. Pickering, K. Hong, J. W. Park, M. R. Shalaby, Y. Shao, C. C. Benz J. D. Marks „Therapeutic efficacy of anti-ErbB2 immunoliposomes targeted by a phage antibody selected for cellular Endocytosis” *Biochim. Biophys. Acta* 2002, **1591**, 109
- ³⁶ I. S. Kim, S. H. Kim „Development of polymeric nanoparticulate drug delivery systems: evaluation of nanoparticles based on biotinylated poly(ethylene glycol) with sugar moiety” *Int. J. Pharm.* 2003, **257**, 195
- ³⁷ J. W. Park, D. B. Kirpotin, K. Hong, R. Shalaby, Y. Shao, U. B. Nielsen, J. D. Marks, D. Papahadjopoulos and C. C. Benz „Tumor targeting using anti-her2 immunoliposomes” *J. Control. Release* 2001, **74**, 95
- ³⁸ S. Wilhelm, T. Hirsch, W. M. Patterson, E. Scheucher, T. Mayr, O. S. Wolfbeis „Multicolor Upconversion Nanoparticles for Protein Conjugation” *Theranostics* 2013, **3**, 239
- ³⁹ D. J. Dunlop „Superparamagnetic and single-domain threshold sizes in magnetite” *J. Geophys. Res.* 1973, **78**, 1780
- ⁴⁰ D. H. Kim, D. E. Nikles, C. S. Brazel „Synthesis and characterization of multifunctional chitosan-MnFe₂O₄ nanoparticles for magnetic hyperthermia and drug delivery” *Materials* 2010, **3**, 4051
- ⁴¹ J. Carrey, B. Mehdaoui, M. Respaud „Simple models for dynamic hysteresis loop calculations of magnetic single-domain nanoparticles: Application to magnetic hyperthermia optimization” *J. Appl. Phys.* 2011, **109**, 083921
- ⁴² S. Dutz, R. Hergt „Magnetic nanoparticle heating and heat transfer on a microscale: Basic principles, realities and physical limitations of hyperthermia for tumour therapy” *Int. J. Hyperthermia* 2013, **29**, 790
- ⁴³ L. Neel „Magnetic properties of ferrites: ferrimagnetism and antiferromagnetism.” *Ann. Phys.* 1948, **3**, 137

- ⁴⁴ S. Verma, J. Chand, M. Singh „Effect of In^{3+} ions doping on the structural and magnetic properties of $\text{Mg}_{0.2}\text{Mn}_{0.5}\text{Ni}_{0.3}\text{In}_x\text{Fe}_{2-x}\text{O}_4$ spinel ferrites” *J. Magn. Magn. Mater.* 2012, **324**, 3252
- ⁴⁵ Q. Xing, Z. Peng, C. Wang, Z. Fu, X. Fu „Doping effect of Y^{3+} ions on the microstructural and electromagnetic properties of Mn–Zn ferrites” *Phys. B* 2012, **407**, 388
- ⁴⁶ S. E. Shirsath, B. G. Toksha, K. M. Jadhav „Structural and magnetic properties of In^{3+} substituted NiFe_2O_4 ” *Mater. Chem. Phys.* 2009, **117**, 163
- ⁴⁷ M. Ishaque, M. U. Islam, M. A. Khan, I. Z. Rahman, A. Genson, S. Hampshire, „Structural, electrical and dielectric properties of yttrium substituted nickel ferrites” *Phys. Rev. B: Condens. Matter* 2010, **405**, 1532
- ⁴⁸ R. D. Shannon „Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides.” *Acta Cryst.* 1976, **32**, 751
- ⁴⁹ D. Ortega, Q. A. Pankhurst „*Nanoscience: Volume 1: Nanostructures through Chemistry*”; O’Brien, P., Royal Society of Chemistry, 2012, 60
- ⁵⁰ M. Kallumadil, M. Tada, T. Nakagawa, M. Abe, P. Southern, Q. A. Pankhurst „Suitability of commercial colloids for magnetic hyperthermia” *J. Magn. Magn. Mater.* 2009, **321**, 1509
- ⁵¹ R. Lv, X. Jiang, F. Yang, Y. Wang, M. Feng, J. Liua, J. Tian „Degradable magnetic-response photoacoustic/up-conversion luminescence imaging-guided photodynamic/photothermal antitumor therapy” *Biomater. Sci.* 2019, **7**, 4558
- ⁵² D. Jaque, L.M. Maestro, B. del Rosal, P. Haro-Gonzalez, A. Benayas, J.L. Plaza, E.M. Rodríguez, J.G. Solea „Nanoparticles for photothermal therapies” *Nanoscale* 2014, **6**, 9494
- ⁵³ H. Rodríguez-Rodríguez, G. Salas, J.R. Arias-Gonzalez „Heat generation in single magnetic nanoparticles under near-infrared irradiation” *J. Phys. Chem. Lett.* 2020, **11(6)**, 2182
- ⁵⁴ A.G. Roca, L. Gutiérrez, H. Gavilán, M.E. Fortes Brollo, S. Veintemillas-Verdaguer, M. del Puerto Morales „Design strategies for shape-controlled magnetic iron oxide nanoparticles” *Adv. Drug Delivery Rev.* 2019, 138, 68
- ⁵⁵ H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P.L. Choyke, Y. Urano „New strategies for fluorescent probe design in medical diagnostic imaging” *Chem. Rev.* 2010, **110(5)**, 2620
- ⁵⁶ X. Qiu, X. Zhu, X. Su, M. Xu, W. Yuan, Q. Liu, M. Xue, Y. Liu, W. Feng, F. Li „Near-infrared upconversion luminescence and bioimaging in vivo based on quantum dots” *Adv. Sci.* 2019, **6**, 1801834
- ⁵⁷ M. Yoon, Y. Kim, J. Cho „Multifunctional colloids with optical, magnetic, and superhydrophobic properties derived from nucleophilic substitution-induced layer-by-layer assembly in organic media” *ACS Nano*, 2011, **5(7)**, 5417
- ⁵⁸ H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P.L. Choyke, Y. Urano „New strategies for fluorescent probe design in medical diagnostic imaging” *Chem. Rev.*, 2010, **110(5)**, 2620
- ⁵⁹ M. J. Mitchell, M. M. Billingsley, R. M. Haley, M. E. Wechsler, N. A. Peppas, R. Langer „Engineering precision nanoparticles for drug delivery” *Nat. Rev. Drug Discov.* 2021, **20**, 101
- ⁶⁰ G. J. Doherty, H. T. McMahon „Mechanisms of endocytosis” *Annu. Rev. Biochem.* 2009, **78(1)**, 857
- ⁶¹ A. Sorkin, M. von Zastrow „Endocytosis and signalling: intertwining molecular networks” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2009, **10(9)**, 609
- ⁶² N. Oh, J. H. Park „Endocytosis and exocytosis of nanoparticles in mammalian cells” *Int. J. Nanomed.* 2014, **9(1)**, 51
- ⁶³ L. Palanikumar, S. Al-Hosani, M. Kalmouni, V. P. Nguyen, L. Ali, R. Pasricha, F. N. Barrera, M. Magzoub „pH-responsive high stability polymeric nanoparticles for targeted delivery of anticancer therapeutics” *Commun. Biol.* 2020, **3(1)**, 95
- ⁶⁴ S. H. Nam, Y. M. Bae, Y. I. Park, J. H. Kim, H. M. Kim, J. S. Choi, K. T. Lee, T. Hyeon, Y. D. Suh „Long-term real-time tracking of lanthanide ion doped upconverting nanoparticles in living cells” *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2011, **50(27)**, 6093
- ⁶⁵ X. Li, Y. Tang, L. Xu, X. Kong, L. Zhang, Y. Chang, H. Zhao, H. Zhang, X. Liu „Dependence between cytotoxicity and dynamic subcellular localization of up-conversion nanoparticles with different surface charges” *RSC Adv.* 2017, **7(53)**, 33502
- ⁶⁶ Y. Gu, X. Qiao, J. Zhang, Y. Sun, Y. Tao, S. Qiao „Effects of surface modification of upconversion nanoparticles on cellular uptake and cytotoxicity” *Chem. Res. Chin. Univ.* 2016, **32(3)**, 474
- ⁶⁷ A. E. Guller, A. Nadort, A.N. Generalova, E. V. Khaydukov, A. V. Nechaev, I. A. Kornienko, E. V. Petersen, L. Liang, A. B. Shekhter, Y. Qian, E. M. Goldys, A.V. Zvyagin „Rational surface design of upconversion nanoparticles with polyethylenimine coating for biomedical applications: better safe than brighter?” *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2018, **4(9)**, 3143

- ⁶⁸ A. E. Guller, A. N. Generalova, E. V. Petersen, A. V. Nechaev, I. A. Trusova, N. N. Landyshev, A. Nadort, E. A. Grebenik, S. M. Deyev, A. B. Shekhter, A. V. Zvyagin „Cytotoxicity and non-specific cellular uptake of bare and surface-modified upconversion nanoparticles in human skin cells” *Nano Res.* 2015, **8(5)**, 1546
- ⁶⁹ G. K. Das, D. T. Stark, I. M. Kennedy „Potential toxicity of up-converting nanoparticles encapsulated with a bilayer formed by ligand attraction” *Langmuir* 2014, **30(27)**, 8167
- ⁷⁰ C. Song, S. Zhang, Q. Zhou, L. Shi, L. Du, D. Zhi, Y. Zhao, Y. Zhen, D. Zhao „Bifunctional cationic solid lipid nanoparticles of β -NaYF₄:Yb,Er upconversion nanoparticles coated with a lipid for bioimaging and gene delivery” *RSC Adv.* 2017, **7(43)**, 26633
- ⁷¹ M. Sousa de Almeida, E. Susnik, B. Drasler, P. Taladriz-Blanco, A. Petri-Fink, B. Rothen-Rutishauser „Understanding nanoparticle endocytosis to improve targeting strategies in nanomedicine” *Chem. Soc. Rev.* 2021, **50(9)**, 5397
- ⁷² V. Francia, C. Reker-Smit, G. Boel, A. Salvati „Limits and challenges in using transport inhibitors to characterize how nano-sized drug carriers enter cells” *Nanomedicine* 2019, **14(12)**, 1533
- ⁷³ I. M. S. Degors, C. Wang, Z. U. Rehman, I. S. Zuhorn „Carriers break barriers in drug delivery: endocytosis and endosomal escape of gene delivery vectors” *Acc. Chem. Res.* 2019, **52(7)**, 1750
- ⁷⁴ D. Dutta, J. G. Donaldson „Search for inhibitors of endocytosis: intended specificity and unintended consequences.” *Cell Logist.* 2012, **2(4)**, 203
- ⁷⁵ Y. M. Bae, Y. I. Park, S. H. Nam, J. H. Kim, K. Lee, H. M. Kim, B. Yoo, J. S. Choi, K. T. Lee, T. Hyeon, Y. D. Suh „Endocytosis, intracellular transport, and exocytosis of lanthanide-doped upconverting nanoparticles in single living cells” *Biomaterials* 2012, **33(35)**, 9080
- ⁷⁶ D.M. Samhadaneh, G. A. Mandl, Z. Han, M. Mahjoob, S. C. Weber, M. Tuznik, D. A. Rudko, J. A. Capobianco, U. Stochaj „Evaluation of lanthanide-doped upconverting nanoparticles for in vitro and in vivo applications” *ACS Appl. Bio Mater.* 2020, **3(7)**, 4358
- ⁷⁷ C. Wang, M. He, Chen B, B. Hu „Study on cytotoxicity, cellular uptake and elimination of rare-earth-doped upconversion nanoparticles in human hepatocellular carcinoma cells. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2020, **203**, 110951
- ⁷⁸ J. Ferrera-Gonzalez, L. Frances-Soriano, C. Galiana-Rosello, J. González-García, M. González-Béjar, E. Fröhlich, J. Pérez-Prieto „Initial biological assessment of upconversion nanohybrids” *Biomedicines* 2021, **9(10)**, 1419
- ⁷⁹ H. Shen, Q. Lin, W. Cao, C. Yang, N. T. Shewmon, H. Wang, J. Niu, L. S. Li, J. Xue „Efficient and long-lifetime full-color light-emitting diodes using high luminescence quantum yield thick-shell quantum dots” *Nanoscale* 2017, **9(36)**, 13583
- ⁸⁰ W. Zhang, W. Wang, D. X. Yu, Z. Xiao, Z. He „Application of nanodiagnostics and nanotherapy to CNS diseases” *Nanomedicine* 2018, **13**, 2341
- ⁸¹ D. M. Teleanu, C. Chircov, A. M. Grumezescu, A. Volceanov, R. I. Teleanu „Impact of nanoparticles on brain health: An up to date overview” *J. Clin. Med.* 2018, **7**, 490.
- ⁸² N.J. Woolf, A. Priel, J.A. Tuszyński „Nanotechnology, Nanostructure, and Nervous System Disorders. In *Nanoneuroscience*”; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2009; pp. 177–226.
- ⁸³ X.R. Qi, R.W. Verwer, A.M. Bao, R.A. Balesar, S. Luchetti, J.N. Zhou, D.F. Swaab „Human brain slice culture: A useful tool to study brain disorders and potential therapeutic compounds.” *Neurosci. Bull.* 2019, **35**, 244
- ⁸⁴ N. Saba, A. Pangha, S. J. S. Flora „Nanotechnology: A promising approach for delivery of neuroprotective drugs.” *Front. Neurosci.* 2020, **14**, 494
- ⁸⁵ R. Walters, R. P. Kraig, I. Medintz, J. B. Delehanty, M. H. Stewart, K. Susumu, A. L. Huston, P. E. Dawson, G. Dawson, „Nanoparticle targeting to neurons in a rat hippocampal slice culture model” *ASN Neuro* 2012, **4**, 383
- ⁸⁶ A. Y. Estevez, S. Pritchard, K. Harper, J. W. Aston, A. Lynch, J. J. Lucky, J. S. Ludington, P. Chatani, W. P. Mosenthal, J. C. Leiter, S. Andreescu, J. S. Erlichman „Neuroprotective mechanisms of cerium oxide nanoparticles in a mouse hippocampal brain slice model of ischemia.” *Free Radic. Biol. Med.* 2011, **51**, 1155
- ⁸⁷ C. Kursungoz, S.T. Taş, M.F. Sargon, Y. Sara, B. Ortaç, „Toxicity of internalized laser generated pure silver nanoparticles to the isolated rat hippocampus cells.” *Toxicol. Ind. Health* 2017, **33**, 555

.....
(podpis wnioskodawcy)