



INSTYTUT NISKICH TEMPERATUR
I BADAŃ STRUKTURALNYCH
im. Włodzimierza Trzebiatowskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Adres Instytutu:
ul. Okólna 2, 50-422 Wrocław
Adres elektroniczny:
intibs@intibs.pl

71 343 5021, 71 395 4000 (xxx nr wew.)
Fax: 71 344 1029
Poniedziałek - piątek w godz. 7:30-15:30

Wrocław, 20.01.2025

prof. dr hab. inż. **Artur Bednarkiewicz**

tel. **48 71 3954 291**

e-mail: **a.bednarkiewicz@intibs.pl**

**Recenzja dorobku naukowego dr Bożeny Sikory – Dobrowolskiej, w postępowaniu
habilitacyjnym w dziedzinie Nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki fizyczne.**

Na podstawie wniosku z 9 maja 2024, osiągnięcia naukowe będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego stanowią:

- OSIĄGNIĘCIE 1 - Cykl publikacji zatytułowany: „Zaprojektowanie, wytwarzanie i charakteryzacja wielofunkcyjnych nanocząstek opto-magnetycznych o ulepszonych właściwościach fizykochemicznych w kontekście ich potencjalnych zastosowań biologicznych i medycznych”
- OSIĄGNIĘCIE 2 - Cykl publikacji zatytułowany: „Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a strukturami biologicznymi (komórki i tkanki)”

1. Sylwetka Habilitantki

Pani dr **Bożena Sikora – Dobrowolska** obroniła pracę magisterską w 2008 roku na wydziale Chemii UW pod opieką prof.dr hab. Grzegorza Litwinienki. W 2014 roku, po 6 latach realizacji, obroniła z wyróżnieniem pracę doktorską z nauk fizycznych w Środowiskowym Laboratorium Fizyki Biologicznej, w Instytucie Fizyki PAN pod opieką prof. Danka Elbauma. Od tego czasu do chwili obecnej jest zatrudniona jako adiunkt w macierzystej jednostce. Jej specjalizacja dotyczy syntezy, funkcjonalizacji i badania wielofunkcyjnych nanocząstek opto-magnetycznych i nieorganicznych nanocząsteczek domieszkowanych jonami lantanowców, pod kątem możliwości ich wykorzystania w biologii i medycynie, w zastosowaniach w terapii (np.terapii fotodynamicznej, hipertermii) i diagnostyce.

2. Ocena aktywności naukowo-dydaktycznej Habilitantki

2.1 Wprowadzenie

Kandydatka, wypełniając wymóg Ustawy z dnia 20 lipca 2018r Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy), przedstawiła w autoreferacie jako podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, dwa osiągnięcia:

- W ramach osiągnięcia 1, pt. „Zaprojektowanie, wytwarzanie i charakteryzacja wielofunkcyjnych nanocząstek opto-magnetycznych o ulepszonych właściwościach fizykochemicznych w kontekście ich potencjalnych zastosowań biologicznych i medycznych” przedstawiła 5 artykułów (A1-A5) wieloautorskich w rozpoznawalnych czasopismach (np. Nanotechnology 2x, RSC Adv, J Phys Chem C i J. Magn Mag Mater z Q2 i Q3 w dyscyplinach fizyko-chemicznych, IF=2.700-4.126). W czterech z nich jest autorką korespondencyjną, w jednym ostatnią (ale nie korespondencyjną). Cenne jest to, że tylko jedna z tych prac jest opublikowana z opiekunem pracy doktorskiej.
- W ramach osiągnięcia 2, pt. „Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a strukturami biologicznymi (komórki i tkanki)” opublikowała trzy artykuły w dobrych czasopismach (tj. Nanoscale, Nanomedicine, Int J Mol Sci, z Q1 i Q2 w dyscyplinach fizyko-chemicznych, IF=5.500-7.233). W każdym artykule jest (współ-) autorką korespondencyjną, w jednym na 3 artykułów współautorem jest promotor pracy doktorskiej.

Od dnia złożenia wniosku habilitacyjnego (9.05.2024) do momentu wykonania niniejszej recenzji (10.01.2025) liczba publikacji wzrosła z 26 do 28 (o 2), liczba cytowani wzrosła z 339(299) do 382(338) – tj. o 43 (39). Jej index Hirscha wzrósł z 12 do 13 (o 1).

Opis wkładu habilitantki, a także oświadczenia współautorów w/w publikacji w sposób klarowny wskazuje na jej dominującą rolę w planowaniu, a także dużą rolę w realizacji pomiarów i analizie uzyskanych danych oraz publikowaniu wszystkich przedstawionych osiągnięć. Ocena wkładu współautorów prac wieloautorskich jest moim zdaniem istotny, gdyż pozwala zrozumieć rolę habilitantki i jej gotowości do samodzielnej pracy naukowej



INSTYTUT NISKICH TEMPERATUR
I BADAŃ STRUKTURALNYCH
im. Włodzimierza Trzebiatowskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Adres Instytutu:
ul. Okólna 2, 50-422 Wrocław
Adres elektroniczny:
intibs@intibs.pl

71 343 5021, 71 395 4000 (xxx nr wew.)
Fax: 71 344 1029
Poniedziałek - piątek w godz. 7:30-15:30

w tym m.in., tak jak to miało miejsce w przedstawionym dorobku, organizowaniu pracy zespołów naukowców w celu realizacji kompleksowych badań interdyscyplinarnych. Moim zdaniem, przedstawione informacje wskazują, że pani dr Bożena Sikora – Dobrowolska bardzo dobrze w tej roli się odnalazła. Szeroki zespół autorów wskazuje też moim zdaniem na umiejętność Habilitantki do kompleksowego spojrzenia na zaawansowane i złożone zagadnienia fotochemii i fotofizyki, transferów energii, znaczenia nanobiotechnologii itp.. Niestety, uwzględniając czas powstania poszczególnych prac, cytowania na poziomie <4 cytowania na rok (na bazie WebOfScience z dnia 20.01.2025) należy uznać za przeciętne. O ile jest to zrozumiałe dla świeżych prac, mam na myśli prace 2-8 letnie. Jedynie praca A4 ma 7.8 cytowań na rok (wiek prawie 5 lat). Prócz wymienionych publikacji, habilitantka przedstawiła dodatkowo 16 prac – część z nich, mimo faktu, że pani Sikora jest autorką korespondencyjną (np. P10, P11, P12, P14), nie znalazła się w opisie osiągnięć – wynika to z faktu, że wymienione prace pochodzą z jej doktoratu. Zdecydowana większość tych prac ma również średnie cytowania na poziomie <3 na rok co należy uznać za wynik przeciętny. Habilitantka jest również współautorką patentu polskiego przyznanego w 2014 roku.

Od czasu obrony doktoratu w 2014 roku, habilitantka zrecenzowała jedynie 7 artykułów, kierowała projektem SONATA 8, realizowała postdoc w projekcie MAESTRO 4 i była wykonawcą w 1 projekcie. Odbiła trzy, 1-2 miesięczne staże naukowe (2x Brazylia, 1x Wuhan). Od 2014, habilitantka wygłosiła 7 wykładów zaproszonych (4 międzynarodowe) oraz 8 wykładów zwykłych (w tym 7 międzynarodowych). Otrzymała też 3 nagrody (najlepsze wystąpienie, i 2 plakaty), jednak jak rozumiem prezentowane były wyniki z pracy doktorskiej (rok 2014). Jej praca doktorska została wyróżniona przez RN IF PAN w 2014 roku. Jako współautorka konkursu INNOWACJE 2011 na 7 targach Techniki Przemysłowej, Nauki i Innowacji „Technicon Innowacje” w Gdańsku otrzymała (razem z 15 współautorami) Złoty medal (nie podano wkładu habilitantki). Od obrony doktoratu, żadne nowe wyróżnienia i nagrody nie pojawiły się w dorobku habilitantki.

Habilitantka angażuje się również w edukację i promocję nauki – była promotorką pomocniczą 2 doktoratów obronionych w 2022, a kolejne 2 prace doktorskie są w trakcie realizacji. Była promotorką 6 prac inżynierskich związanych z nanomateriałami oraz współpromotorką pracy inżynierskiej, 3 magisterskich i 3 licencjackich – wszystkie one były związane zastosowaniami nanomateriałów (luminescencyjnych, magnetycznych, hybrydowych) w obszarze badań bio-medycznych. Habilitantka prowadziła wykład „nanobiotechnology” (2023), wykłady i ćwiczenia (od 2017) (nie wspomniano ile razy)

i praktyki studenckie (od 2009) (nie wspomniano ile razy). Od 2023 jest członkinią RN IF PAN (2023-2026) i Komisji ds. Adiunktów i Asystentów, Komisji ds. Strategii Rozwoju Instytutu. Od 2017 prowadzi własny statutowy temat badawczy. Wykazywała się również działalnością popularyzatorską – przygotowała jeden artykuł popularnonaukowy dla pacjentów onkologicznych, prowadziła zajęcia w trakcie dni otwartych IF PAN i lekcje popularyzatorskie dla nauczycieli i uczniów szkół średnich.

2.2 Analiza osiągnięcia naukowego – ocena wraz z uzasadnieniem, czy wskazane osiągnięcia naukowe w postaci 2 cykliów powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowi znaczący wkład w rozwój określonej dyscypliny.

Wstęp i motywacje do przeprowadzonych badań opisujących osiągnięcie 1 jest opisany krótko, ale w sposób rzeczowy, niestety bez rzetelnego wprowadzenia do literatury przedmiotu – podjęta tematyka badawcza jest ciekawa i zgodna z panującymi trendami, trudno jednak na przykład uznać propozycję połączenia UCNP z PS za przełomowe (praca **A1**), gdyż temat wykorzystania cząstek konwertujących energię w górę do inicjowania reakcji PDT jest badana od wielu lat. Autorka nie wyszła poza sztandarowe nanokryształy UCNP współdomieszkowane jonami Yb i Er albo Yb i Tm (np. proponując bardziej innowacyjne badania materiałów typu rdzeń płaszcz i możliwości wzbudzenia bardziej bezpieczną długością fali 808 nm za pomocą jonów uczulających typu Nd³⁺). Nie w pełni przekonują mnie konkluzje – a raczej dość ogólne wnioski wyciągnięte z przeprowadzonych badań. Autorka kotwiczyła RB na powierzchni pasywowanych krzemionką nanokryształów UCNP twierdząc, że uzyskała sporą wydajność transferu energii wynoszącą ~20% (62% udział FRET). Jednak jak sama wspomniała wcześniej wydajność zależy od 6 potęgi odwrotności odległości między donorem a akceptorem, przy czym dystans Förstera dla YbEr i RB to około 2 nm – przy obecności krzemionkowej otoczki która w naturalny sposób zwiększa dystans D-A, wydajność FRET powinna być znikoma lub zerowa. Obserwowane zmiany w kinetyce czasów zaników wymagałyby po pierwsze pokazanie całych kinetyk (czasów narostu i zaniku) i poszerzonej interpretacji. O ile zaobserwowano obniżenie intensywności emisji pasm zielonych ⁴S_{3/2}+²H_{11/2} jonów Er³⁺ po połączeniu z RB, nie zaobserwowano żadnej emisji RB.

Nie zgadzam się też z tezą "zatem oczekuje się, że obliczona wydajność FRET pomiędzy UCNPs@SiO₂ i nanokryształami CdTe będzie podobna do wydajności FRET w układzie UCNPs@SiO₂-RB." – oba akceptory – tj. RB i kropki CdTe mają zapewne różne współczynniki ekstynkcji co wpłynie na różną wartość dystansu Förstera, więc przytoczona hipoteza może, ale nie musi być słuszna. Chyba, że autorka dokonała obliczenia R₀, które mimo wszystko powinno być bliskie wartości 2 nm a obecność SiO₂, który zwiększa dystans D-A na pewno nie poprawia wydajności FRET. Również porównanie efektywności produkcji Radical Oxygen Species (ROS) przy pomocy DPBF pozostawia kilka pytań o rzetelność porównania – bowiem dla wzbudzenia NIR badania były prowadzone laserem 980 nm, gęstości mocy pobudzenia wynosiła 3 W/cm² a koncentracja cząstek 64 ug / mL, podczas gdy same cząstki RB badano przy wzbudzeniu 549 nm i szacunkowej gęstości mocy 13 mW /cm². Rodzi się wiele pytań: Czy można dokonać porównania ilościowego ? Jak ma się takie porównanie do warunków panujących w głębi tkanki, dla którego to przypadku autorka wykazuje przewagę UCNP-@SiO₂-RB @ 980 nm @ 3 W/cm² względem RB przy 13 mW/cm² @ 549 nm @ 13 mW ? Jak 2-3 W/cm² przy 980 nm ma się do limitu gęstości mocy dopuszczonej normami ? Dlaczego nie zastosowano cząstek wzbudzonych poprzez Nd³⁺ @ 808 nm, które jest znacznie bardziej korzystne niż przy długości fali 980 nm ze względu na absorpcję H₂O na 980 nm? Czy koncentracja 250 ug/mL NP to dużo ? Podsumowując, o ile doceniam ilość pracy włożonej w przygotowanie i wykonanie eksperymentów, trudno stwierdzić, czy uzyskane wyniki UC-PDT to faktycznie poprawa w stosunku do tradycyjnego PDT. Nie jest też jasne na czym polega innowacyjny charakter tych prac jeśli UC-PDT było w literaturze badane od kilku lat. Autorka powinna była przeprowadzić bardziej zaawansowaną analizę ilościową, i w sposób dokładniejszy i krytyczny przedstawić porównanie uzyskanych wyników w odniesieniu do podobnych badań z literatury. Autorka nie odniosła się również do dyskutowanego i poddawanego w wątpliwość w literaturze możliwości uzyskania medycznych zgód na wykorzystania nanomateriałów nieorganicznych do zastosowań *in vivo* – czyli tam, gdzie habilitantka chciałaby je zastosować.

W pracy **A2** wykorzystano podobne nanocząstki, ale domieszkowano je jonami YbTm i postawiono hipotezę, że możliwe jest wytworzenie ROS bez obecności PS. Wykorzystano do tego, opisany bardzo skrótowo w porównaniu do opisu pracy A1, ale sprytny eksperyment i związek CMH, który generuje sygnał EPR po reakcji z wolnymi rodnikami. Zaobserwowano wzrost sygnału EPR po 20 min naświetlania. Również ta praca pozostawia parę niejasności,

na przykład – w jaki sposób możliwa jest produkcja ROS gdy UNP jest otoczony warstwą krzemionkową o grubości ca. 3.3 nm? Jak 15 mg/ml ma się do możliwości praktycznych zastosowań (szczególnie że próg toksyczności autorka oznaczyła na 50 ug/ml)? Czy 10% spadek przeżywalności (z pracy **A3**) to faktycznie dużo? Jak te wyniki mają się do bezpośredniego PDT lub UC-PDT i poprzednich badań – bardzo brakuje mi rzetelnego i krytycznego porównania. W publikacji pokazano efekt UC-PDT, ale w zasadzie nie wyjaśniono mechanizmu. Jak wypada porównanie UC-PDT z PDT z wykorzystaniem jedynie długości fali 455 i/lub 415 nm? Dlaczego nie zastosowano nanokryształów LiYF_4 w których powszechnie wiadomo, że intensywność konwersji energii do UV za pomocą pary Yb/Tm jest wyższa niż dla NaYF_4 ? Jakie są szanse na uzyskanie zezwoleń na stosowanie nieorganicznym nanomateriałów do terapii *in-vivo*. Ponownie, ilość i poziom zaawansowania przeprowadzonych badań – tzw. warsztat (m.in. syntezy, bio-funkcjonalizacja, pomiary, obrazowanie) robi duże wrażenie, ale o ile naukowy aspekt wydaje się ciekawy, autorka deklaruje chęć opracowania nanomateriałów do zastosowań terapeutycznych – ten aspekt i wyciągnięte wnioski pozostawiają niestety sporo niejasności i niedopowiedzeń.

W pracach **A4** i **A5** wykorzystano cząsteczki Fe_3O_4 o właściwościach magnetycznych do hipertermii magnetycznej i optycznej w wyniku aktywacji tych nanomateriałów zmiennym polem magnetycznym. Opis tych wątków jest na szczęście znacznie bogatszy niż dla prac A2 i A3. Habilitantka wykazała, że niewielka domieszka jonów Y^{3+} (w zasadzie tylko 1 próbka, 0.1% Y^{3+}) zwiększa współczynniki SAR (ang. Specific Absorption Rate) oraz ILP ((ang. Intrinsic Loss of Power) w badanych materiałach Fe_3O_4 . Nie wyjaśniono jak powstał pomysł na domieszkowanie Fe_3O_4 jonami Y^{3+} , jednak w literaturze, można spotkać ten rodzaj modyfikacji jonami metalu różnych związków Fe_3O_4 (jonami Mg, Al, Se, Zn, Sn, Mo, S, Cr, and Ti), lub NaYF_4 (jonami K, Lu, Gd, Li) aby zmodyfikować ich strukturę krystalograficzną, a tym samym zmodyfikować właściwości fizykochemiczne (np. (1) [Magnetic \$\text{CoFe}_2\text{O}_4\$ nanoparticles doped with metal ions: A review - ScienceDirect](#), (2) [Cu²⁺ and Y³⁺ co-doped effect on morphology, structural, optical and photoelectrochemical properties of \$\text{Fe}_2\text{O}_3\$ photoanode - ScienceDirect](#)). Bardzo dziwnie brzmi wniosek „...co potwierdza, że namagnesowanie wzrasta wraz ze stężeniem domieszki, aż do maksimum. Następnie namagnesowanie maleje...”. Autorka wyciąga również bardzo ogólny i nad wyraz optymistyczny wniosek „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.” podczas gdy przeżywalność komórek 4T1 spadła do wartości 84.9 % (dla Fe_3O_4) i 76.7 % (dla $\text{Fe}_3\text{O}_4:0.1\%\text{Y}$) (dla uproszczenia podałem wartości dla koncentracji 35 ug/ml). Czy 35 ug/ml Fe_3O_4 to dużo dla komórek ? Czy poprawa o 8.2 % ($\text{Fe}_3\text{O}_4:0.1\%\text{Y}^{3+}$ vs Fe_3O_4) to faktycznie dużo ? Czy ~25% śmiertelność komórek przy traktowaniu Fe_3O_4 z AMF (alternating magnetic field) jest wystarczającą by wysnuć tak śmiały wniosek i przekonać środowisko medyczne ? Nie twierdzę, że akceptacja efektów ubocznych wprowadzenia obcych nieorganicznych związków przy korzystnych efektach terapeutycznych nie jest możliwa, ale brakuje moim zdaniem krytycznej dyskusji na ten temat.

W kolejnej pracy (A5) autorka uzyskała materiały hybrydowe $\text{UCNPs@SiO}_2\text{@Fe}_3\text{O}_4$, gdzie laser o długości fali 980 nm służyła do wzbudzania emisji anty-Stokesowskiej jonów Er^{3+} , a 808 lub 880 nm do fotowzbudzania PTT. Autorka pokazała zagęszczanie tak uzyskanych nanomateriałów za pomocą magnesu a także relatywnie wydajną emisję anty-Stokesowską. Na podstawie skromnych przesłanek (widma absorpcji i zdjęcia próbek w świetle białym) oraz TEM, wnioskuję że materiały były dość mocno spontanicznie zagregowane – bardzo przydałyby się pomiary DLS, gdyż dopiero uzyskanie indywidualnych zawieszonych nanomateriałów pozwala myśleć o zastosowaniach medycznych. Z tego samego powodu trudno uznać badania toksyczności za wystarczająco wiarygodne. Niektóre z wniosków habilitantki są niespójne – w jednym miejscu referatu habilitantka tłumaczy zwiększoną efektywność grzania opracowanych nanomateriałów (szczególnie przy 880 nm) dopasowaniem tej długości fali do pasma absorpcji wody, w innym miejscu pisze „Pokazałam, że takie nanocząstki generują wzrost temperatury po naświetleniu laserem 808 nm i 880 nm...” – jest to niespójność, gdyż przy 808 nm woda absorbuje słabo. Przedstawione przez habilitantkę wnioski końcowe są znowu optymistyczne, choć moim zdaniem przedwczesne. Ponownie rodzi się sporo pytań – czy 2.5 mg / ml cząstek hybrydowych w komórkach to dużo czy mało? Czy wyznaczono ilościową wartość efektywności konwersji światła na ciepło żeby porównać uzyskane materiały do istniejących w literaturze danych (np. [Quantitative Comparison of the Light-to-Heat Conversion Efficiency in Nanomaterials Suitable for Photothermal Therapy | ACS Applied Materials & Interfaces](#)). Czy zweryfikowano jak efektywnie badany materiał grzeje otoczenie pod wpływem wiązki 980 nm niezbędnej do uzyskania emisji ? Brakuje moim zdaniem komentarza o selektywności adresowania określonej funkcji w sposób niezależny – tzn. możliwości uzyskania albo tylko grzania, albo

tylko emisji. W podsumowaniu, autorka ponownie mówi o dużej nowości i dużym interdyscyplinarnym osiągnięciu. I znowu, podziwiając warsztat i umiejętności zespołu współpracującego w opracowaniu tych nanomateriałów hybrydowych, brakuje mi rzetelnego przeglądu literatury i (korzystnie ilościowego) porównania uzyskanych wyników do wcześniejszych doniesień literaturowych, a tych w obszarze PTT nie brakuje.

Publikacje stanowiące drugie osiągnięcie odpowiada na część pytań postawionych przeze mnie w odniesieniu do osiągnięcia pierwszego. Mianowicie osiągnięcie 2 zawarte w 3 publikacjach (B1-3) porusza zagadnienia toksyczności, akumulacji, biodystrybucji i interakcji nanomateriałów UCNP z docelowym materiałem biologicznym. Bardzo korzystne było moim zdaniem podanie motywacji do podjęcia badań, które równocześnie wyjaśnia elementy nowości prowadzonych badań – tj. *„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.”*. To, jak również odnośnienie się do literatury stanowi, że opis osiągnięcia 2, mimo, że krótszy jest moim zdaniem bardziej wartościowy, ciekawszy i rzetelniej opracowany niż w przypadku osiągnięcia 1. Uzyskane wyniki faktycznie wnoszą dużo ciekawych, nowych informacji i zrozumienia do obszaru nano-biotoksyczności mimo, że literatura dotycząca nanotoksyczności cząstek upkonwertujących wydawała się dość bogata już w 2015 roku, kiedy przygotowałem we współpracy artykuł przeglądowy na ten temat ([Upconverting nanoparticles: assessing the toxicity - Chemical Society Reviews \(RSC Publishing\)](#)). Tym bardziej doceniam prowadzone przez habilitantkę badania.

Wśród publikacji naukowych zawartych w osiągnięciu drugim znalazły się 3 prace. W pracy B1 zbadano mechanizm internalizacji i cytotoksyczności UCNPs na 3 typowych liniach komórkowych (HeLa, HEK293 oraz astrocytach). W opisie osiągnięcia nie podano niestety ani matrycy UCNP (domyślam się, że chodzi o NaYF_4), nie podano rodzaju ani koncentracji domieszki (domyślam się, że chodzi o 20YbEr), brakuje też informacji o modyfikacji powierzchni (domyślam się, że jest to SiO_2). Komórki inkubowane z UCNP w stężeniach do 50 $\mu\text{g/ml}$ badano kolokalizując widma emisji, obrazy mikroskopii konfokalnej i TEM, wnioskując (niestety bez uzasadnienia w opisie) o sposobie wnikania na drodze endocytozy za pośrednictwem klatryny i pozbywania się UCNP z ciała komórki na

drodze egzocytozy lizosomalnej. Komplet wyników dotyczących publikacji B1 zamknięto w jednym, pięciozdaniowym paragrafie. W pracy B2, zbadano jak UCNP (ponownie, bez podania detali materiałowych w opisie osiągnięcia) są internalizowane, gdzie się lokalizują subkomórkowo, jaki jest ich profil cytotoksyczności, oraz czy generują zmiany strukturalne w komórkach HeLa i czy wywołują stres oksydacyjny. W tym celu autorka wykorzystwała szereg inhibitorów endocytozy (tj. 8 związków chemicznych i 1 efekt fizyczny – poprzez obniżenie temperatury do 4°C) udowadniając, że „każdy” z nich ograniczał wnikanie UCNP do wnętrza komórki. Zapręgnięto do tego ICP-MS monitorując koncentrację jonów Y^{3+} , po 30 i 60 minutowej inkubacji. Wniosek o tym, że „każdy” inhibitor hamuje wnikanie UCNP do wnętrza komórki, który przez autorkę jest podparty zdjęciami z Ryc.14, nie do końca pokrywa się pomiarami z ICP-MS, gdzie 30-minutowa inkubacja w warunkach z niespecyficznym obniżeniem temperatury do 4°C oraz obecnością Metylo- β -cyklodekstryry (M β cD) czy amylorydu efektu inhibicji nie wywołują. Po 60 minutowej inkubacji wybrane (ale nie wszystkie) inhibitory ograniczyły wnikanie UCNP do wnętrza komórki. Autorzy pracy zaproponowali dwa główne mechanizmy endocytozy, z udziałem klatryny i kaweoli, wykluczyli transport bierny UCNP przez błonę komórkową, wykazali brak akumulacji nanocząstek w organellach komórkowych np. w mitochondriach. Uważam przedstawione wyniki za bardzo ciekawe i rzetelne, brakuje mi jednak informacji w autoreferacie o zastosowanych UCNP i chemii powierzchni badanych nanomateriałów, które z całą pewnością mają wpływ na uzyskane wyniki biologiczne wnikania i pozbywania się UCNP z wnętrza komórek.

Autorka trafnie argumentuje, że tego typu badania mogą tworzyć podwaliny pod przyszłe, wbrew pozorom dość skromnie raportowane dotychczas demonstracje wykorzystania zjawiska UC i UCNP w biotechnologii. Ponadto trafnie sugeruje, że stosowanie organotypowych skrawków tkanek jest ważne – rzeczywiście poziom skomplikowania organizacji komórek *in vitro* w porównaniu do organoidów lub tkanek jest zupełnie inny. Jest to motywacja do realizacji trzeciej z prac (B3), w której model OHSC (ang. Organotypic Hippocampal Slice Cultures) był badany pod kątem interakcji biologicznych z UCNP – badano zjawisko internalizacji UCNP, oceniono cytotoksyczność i zmiany struktury tkanek po ekspozycji na UCNP. Udowodniono między innymi internalizację UCNP oraz dominację endocytozy jako mechanizmu wnikania, transport do głębszych warstw wnętrza tkanki, obecność dużych agregatów UCNP w przestrzeniach między komórkami a także brak UCNP

w cytoplazmie komórek czy we wnętrzu organelli komórkowych. Uważam te wyniki za ciekawe i doceniam warsztat niezbędny do wykonania tego typu badań, jednak ponownie habilitantka w opisie osiągnięcia nie podała explicite, ani nie poddała pod dyskusję wpływu rodzaju UCNP (tj. składu matrycy, wyboru i koncentracja współdomieszek) oraz ich chemii powierzchni. Zastanawia mnie również wybór tematu badawczego – czy autorka planowała zweryfikować transportu UCNP przez barierę krew-mózg ?

Dokumenty opisujące osiągnięcia są przygotowane dość starannie i czytelnie, jednak autorka nie ustrzegła się językowych czy graficznych potknięć, np. „Wykonałam pomiary komórek za pomocą mikroskopii konfokalnej” brzmi dziwnie i mało precyzyjnie; „Właściwości magnetyczne natomiast projektowanych i wytwarzanych” (4.4), „ale także do specyficznego bioznakowanie komórkowego.” i inne. Niektóre z figur są mało czytelne lub dość chaotycznie / niedbale / niejednolicie zorganizowane – np. Rys.1, 4, 11, 12 mają dziwny układ paneli; panele mają różną wielkości, czasem wielkość czcionki jest zbyt mała; razi też brak jednorodności – niektóre z paneli mają nagłówki, inne nie. Niektóre z opisów, dość ważne dla oceny wkładu habilitantki są również mało jednoznaczne – np. co tak naprawdę znaczy „brałam udział w opracowaniu syntezy otrzymywanych nanostruktur”, „Brałam udział w pomiarach luminescencji nanocząstek”. Bez bardziej precyzyjnej informacji co było faktycznym wkładem habilitantki w wymienionych obszarach, takie deklaracje niestety tworzą nienajlepsze wrażenie. Opis osiągnięć jest również bardzo nierówny – o ile praca A1, A4 i A5 są opisane dokładnie, publikacje A2 i A3 bardzo skrótowo (po 2/3 paragrafy, około 1/2 strony na każdą) lub ekstremalnie skrótowo (praca B1, jedynie 5 zdań).

Pomimo krytyki niektórych wyników i braku odniesień do istniejącej literatury i stanu wiedzy, jak również moim zdaniem momentami zbyt pochopnymi wnioskami wysnuwanymi przez Habilitantkę, znalazłem wśród jej osiągnięć kilka ciekawych i wartościowych rezultatów:

1. Opracowanie eksperymentów i weryfikacja możliwości generowania ROS bez udziału klasycznego fotouczulacza pod wpływem promieniowania NIR (praca A3) – uważam, że „im prościej tym lepiej” i możliwość uzyskania ROS za pomocą światła z zakresu NIR zapewni głębszą penetrację światła w głąb absorbujących, autofluorescencyjnych i rozpraszających tkanek.

2. Poprawa właściwości magnetycznych nanocząstek Fe_3O_4 po wprowadzeniu do struktury obcych jonów (tj. Y^{3+}) w koncentracji 0.1% (praca A5) – na pewno intencjonalna modyfikacja właściwości magnetycznych jest cennym wynikiem i kierunek do dalszej optymalizacji.
3. Uzyskanie nanomateriałów hybrydowych łączących zdolność do generacji emisji anty-Stokesowskiej z generacją ciepła – łączenie cech/właściwości kilku materiałów jest cenną możliwością, gdy uzyskanie złożonych właściwości nie jest możliwe do zrealizowania w pojedynczym materiale. Jest to na pewno temat dalszych badań, m.in. w celu eliminacji agregatów.
4. Wykazanie za pomocą mikroskopii TEM, fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej oraz ICP-MS, że za internalizację UCNP przez komórki HeLa oraz hipokamp szczura odpowiada endocytoza za pośrednictwem klatryny i kaweoli.
5. Określenie lokalizacji UCNP w endosomach i lizosomach w 3 rodzajach komórek, brak cytotoksyczności przy relatywnie dużych (do 500 $\mu\text{g/ml}$) i długich (do 48h) inkubacjach komórek *in-vitro* z UCNP.

Biorąc pod uwagę powyższe, uważam, że badania pani dr Bożeny Sikory-Dobrowolskiej stanowią znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny poprzez opublikowanie prac naukowych przedstawionych w postaci 2 powiązanych tematycznie, spójnych, wartościowych osiągnięć naukowych i projektowych.

2.3 Ocena istotnej aktywności naukowej, realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej w szczególności zagranicznej.

Jednym z warunków nadania stopnia doktora habilitowanego (zgodnie z art.219 Ustawy), jest także istotna aktywność naukowa albo artystyczna realizowana w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej. Również w tym zakresie habilitantka może pochwalić się sporą aktywnością. Pomijając jej studia magisterskie na Uniwersytecie Warszawskim, na którym zrealizowała (zakończony opublikowaniem 2 publikacji naukowych z jej udziałem) cykl badań dotyczących antyoksydacyjnej aktywności siedmiu neuroprzebieżników w emulsjach lipidowych, habilitantka wskazuje na swoje doświadczenia zdobyte w trakcie dwóch dwumiesięcznych



INSTYTUT NISKICH TEMPERATUR
I BADAŃ STRUKTURALNYCH
im. Włodzimierza Trzebiatowskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Adres Instytutu:
ul. Okólna 2, 50-422 Wrocław
Adres elektroniczny:
intibs@intibs.pl

71 343 5021, 71 395 4000 (xxx nr wew.)
Fax: 71 344 1029
Poniedziałek - piątek w godz. 7:30-15:30

pobytów w *Instituto de Física, Nfflcleo de Fsica Aplicada Universidade de Brasília*, oraz *Depto de Genética e Morfologia CNANO - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília* w ramach grantu EU Research Project FP7-People-2012-IRSES-BRASIN0EU. Uzyskane wyniki posłużyły do przygotowania publikacji A4 oraz S2, które składają się na zgłoszone osiągnięcie. Odbyte staże zagraniczne (2x w Brazylii, 1x w Chinach, 2 tygodniowe staże w Szwajcarii) nie stanowią klasycznego stażu podoktorskiego, jednak habilitantka aktywnie współpracowała z instytutami poza macierzystą jednostką: we współpracy z Wydziałem Fizyki UW wypromowała 2 prace licencjackich, 3 prace magisterskie i 1 pracę inżynierską. Podobnie, we współpracy z Wydziałem Fizyki PW wypromowała pracę magisterską dotyczącą hybrydowych materiałów UC i magnetycznych. Dodatkowo wypromowała 6 prac inżynierskich na kierunku chemia kosmetyczna w Wyższej Szkole Inżynierii i Zdrowia (WSliZ). W większości wypadków, tematyka tych prac pokrywa się ze specjalizacją pani Sikory, to znaczy dotyczy syntezy i badania luminescencyjnych i magnetycznych nanocząsteczek do zastosowań biomedycznych.

Uważam więc, że również aktywność naukowa pani dr Bożeny Sikory-Dobrowolskiej stanowi relatywnie istotny przyczynek i spełnia kryterium art.129, pkt.1.3 dotyczący aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej w szczególności zagranicznej.



INSTYTUT NISKICH TEMPERATUR
I BADAŃ STRUKTURALNYCH
im. Włodzimierza Trzebiatowskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Adres Instytutu:
ul. Okólna 2, 50-422 Wrocław
Adres elektroniczny:
intibs@intibs.pl

71 343 5021, 71 395 4000 (xxx nr wew.)
Fax: 71 344 1029
Poniedziałek - piątek w godz. 7:30-15:30

3. Podsumowanie

Na podstawie przedstawionych do oceny dokumentów stwierdzam, że osiągnięcia habilitacyjne zatytułowane „Zaprojektowanie, wytwarzanie i charakteryzacja wielofunkcyjnych nanocząstek opto-magnetycznych o ulepszonych właściwościach fizykochemicznych w kontekście ich potencjalnych zastosowań biologicznych i medycznych” oraz „Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a strukturami biologicznymi (komórki i tkanki)” na które składa się cykl powiązanych tematycznie, odpowiednio 5 i 3 artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych, oraz pozostały dorobek naukowy i naukowo-dydaktyczny dr **Bożeny Sikory-Dobrowolskiej** spełniają wymogi ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, określone w Art. 219 ust. 1 pkt 1-3 i stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki fizyczne.

W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pani dr Bożeny Sikory-Dobrowolskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki fizyczne.

Artur Bednarkiewicz

Artur Bednarkiewicz