

Recenzja dorobku naukowego dr Bożeny Sikory-Dobrowolskiej w postępowaniu habilitacyjnym

Pani doktor Bożena Sikora-Dobrowolska uzyskała stopień naukowy magistra chemii w 2008 roku na Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego w Warszawie broniąc pracę pt: *Badanie aktywności antyoksydacyjnej wybranych neuroprzekazników*. Rozprawę doktorską obroniła w Instytucie Fizyki, PAN w Warszawie w roku 2014 i rozprawa ta dotyczyła tematu: *Zaprojektowanie i scharakteryzowanie biosensorów opartych na koloidalnych nanocząstkach do zastosowań w biologii i medycynie*.

Po uzyskaniu stopnia doktora (od roku 2014), Pani doktor Bożena Sikora-Dobrowolska zatrudniona była na stanowisku adiunkta w Środowiskowym Laboratorium Fizyki Biologicznej w Instytucie Fizyki, Polskiej Akademii Nauk. Od roku 2017 równolegle podjęła pracę w Wyższej Szkole Inżynierii i Zdrowia w Warszawie jako wykładowca.

W okresie po doktoracie Pani doktor Bożena Sikora-Dobrowolska odbyła kilka krótkotrwałych staży w jednostkach zagranicznych tj. w 2016 dwu-krotny staż dwumiesięczny w Brazylii w Depto de Genética e Morfologia CNANO - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, w 2012 roku 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), w 2014 roku 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) oraz w 2015 staż miesięczny w Wuhan (Chiny) w School of Automation, Huazhong University of Science and Technology.

W okresie po doktoracie (tj. 2014 - 2024) wyniki pracy badawczej Pani doktor Sikory zostały opublikowane w 18 czasopismach naukowych (całkowita liczba publikacji cytowana przez bazę Web of Science to 36), z czego jedynie nieznaczna ich część tj. 8 publikacji stanowi przedmiot niniejszej rozprawy habilitacyjnej. Wszystkie prace są to publikacje w prestiżowych czasopismach takich jak *Nanoscale* z 2017 roku (17 cytowań, BS jako pierwszy autor),

Nanomedicine z 2023 roku (1 cytowanie, BS autor korespondencyjny), *Nanotechnology* z 2020, (20 cytowań), *J.Phys.Chem.C* z 2020 (40 cytowań, BS jako autor korespondencyjny) czy *RSC Adv.* z 2017 (27 cytowań).

Prace Pani doktor Sikory cytowane były do tej pory 339 razy (299 bez autocytowań – za bazą Web of Science), co przekłada się na indeks *Hirsha* = 12. Bazując jedynie na danych bibliograficznych, można stwierdzić, że tematyka jaką zajmuje się Pani doktor jest interesująca dla międzynarodowego środowiska naukowego, a jakość prezentowanych wyników jest wysoka i była już wielokrotnie oceniana przez światowych ekspertów w dziedzinie, a otrzymane wyniki są zauważane i doceniane cytowaniami. Przedstawione dane potwierdzają także, że Pani Bożena była aktywna naukowo w okresie po doktoracie – średnio ok. 2 publikacje rocznie w okresie ostatnich 10 lat, co jest bardzo dobrym wynikiem zważywszy na interdyscyplinarny charakter powstałych prac.

O istotności oraz aktualności badań prowadzonych przez Panią doktor Sikorę świadczą także zaproszenia jakie otrzymała do wygłoszenia 7 referatów na konferencjach międzynarodowych oraz akceptacja jej zgłoszeń do referowania wyników swojej pracy na 16 innych konferencjach. Siedem zaproszonych wykładów to liczba świadcząca, że nie tylko badania prowadzone przez habilitantkę są dostrzegane przez środowisko, ale także że potrafi ona w sposób prosty i interesujący je prezentować, co uważam za istotne z punktu widzenia oceny możliwości dalszego rozwoju kariery habilitantki – zarówno badawczej jak i dydaktycznej.

Pani doktor Sikora wykazała się także umiejętnością pozyskiwania dodatkowego finansowania na swoje badania, co uważam za jedną z kluczowych umiejętności niezbędną dla skutecznego budowania własnego zespołu badawczego i dalszego samodzielnego rozwoju naukowego. W okresie po doktoracie była kierownikiem 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 oddziaływanie z materiałami biologicznymi*” (numer projektu: DEC-2014/15/D/ST5/02604, Wartość projektu: 498 300 PLN). Wprawdzie pozyskanie jednego, dość niewielkiego projektu, na przestrzeni 10 lat nie jest imponującym wynikiem, niemniej jednak należy to docenić i wziąć pod uwagę fakt, że Pani dr Sikora, wielokrotnie zapraszana była do udziału w innych projektach realizowanych w jej otoczeniu naukowym. Była ona wykonawcą w czterech grantach badawczych tj. MAESTRO 4 Narodowego Centrum Nauki „Magnetyczne

półprzewodnikowe kropki kwantowe z miedzią” (numer projektu: UMO-2013/08/A/ST3/00297); „Rozwój klastra Centrum Inżynierii Biomedycznej” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (numer projektu: UDA-POIG.05.01.00-00); 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); „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).

Udział w tych projektach świadczy o zaufaniu (tym samym wysokich kompetencjach) jakim obdarzyli ją kierownicy projektów oraz o jej umiejętności współpracy w interdyscyplinarnych zespołach. Niewątpliwie interdyscyplinarne wykształcenie oraz doświadczenie Pani dr Bożeny Sikory jest jej dużym atutem, co potwierdza jej udział w wymienionych projektach, a umiejętność współpracy jest w mojej ocenie niezbędną cechą jaką powinni się charakteryzować samodzielni pracownicy nauki, chcący prowadzić swoje badania na wysokim poziomie.

W okresie po doktoracie, Pani dr Sikora zaangażowana była także w działalność dydaktyczną oraz organizacyjną. W okresie tym była/jest promotorem pomocniczym 4 doktoratów, prowadziła wykłady specjalistyczne („Nanobiotechnology” „Modelowanie i projektowanie procesów technologicznych”, „Fizyka”, „Chemia Kwantowa”, „Chemia Fizyczna”), współorganizowała konferencje (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") oraz zajmowała się w tym okresie popularyzacją nauki. Mając na uwadze powyższe, można też domniemać, że w okresie tym Pani dr Bożena Sikora wypracowała sobie także umiejętność pracy z młodymi naukowcami oraz rozwinęła swoje kompetencje dydaktyczne. Obie te cechy także uważam za bardzo istotne z punktu widzenia rozwoju przyszłej kariery naukowej samodzielnego pracownika nauki.

Spośród wszystkich swoich publikacji, habilitantka przedstawiła do oceny cykl **8 wybranych prac** wpisujący się w tematykę dwóch osiągnięć naukowych: *Zaprojektowanie, wytwarzanie i charakteryzacja wielofunkcyjnych nanocząstek opto-magnetycznych o ulepszonych właściwościach fizykochemicznych w kontekście ich potencjalnych zastosowań biologicznych i medycznych* (5 publikacji) oraz *Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a strukturami biologicznymi (komórki i tkanki)* (3 publikacje).

Głównym celem badań przedłożonych do oceny było zaprojektowanie oraz otrzymanie nanocząstek o właściwościach fizycznych, które mogą być bezpośrednio wykorzystane do diagnostyki lub terapii przeciwnowotworowej oraz jako kontrast w obrazowaniu rezonansem magnetycznych (ang. Magnetic Resonance Imaging, MRI). W szczególności, były to nanocząstki konwertujące energię promieniowania w górę, które można wykorzystać w obrazowaniu komórek nowotworowych, lub do wzbudzenia przyłączonego do powierzchni nanocząstek fotouczulacza. Wzbudzony w ten sposób fotouczulacz generuje bowiem toksyczne dla komórek reaktywne formy tlenu (ang. Reactive Oxygen Species, ROS) i takie nanocząstki można zastosować w terapii fotodynamicznej (ang. Photodynamic Therapy PDT). Przedstawione w opracowaniu badania mają charakter mocno interdyscyplinarny łącząc chemię, fizykę oraz biologię i w bardzo skuteczny sposób wykorzystują interdyscyplinarne wykształcenie habilitantki.

W mojej opinii, postawiony cel był bardzo ambitny, ponieważ opracowanie „nanocząstek gotowych do terapii” to zadanie wymagające ogromnych nakładów finansowych, licznego i interdyscyplinarnego zespołu oraz bardzo długiej perspektywy czasu, w którym nie tylko należy stawić czoła licznym wyzwaniom technologicznym ale także licznym wyzwaniom formalno-prawnym. Niemniej jednak uważam, że w trakcie prac nad osiągnięciem tego celu udało się dr Bożenie Sikorze osiągnąć wiele interesujących rezultatów naukowych, mających istotny wkład do dzieciny nauki jaką się zajmuje.

W pierwszej części autoreferatu, dr Sikora opisuje podstawą koncepcję wykorzystania fototerapii dynamicznej oraz na ogólnym poziomie omawia wady i zalety podejścia klasycznego oraz przy wykorzystaniu nanocząstek z konwersją w górę. Omawia także podstawy mechanizmu transferu energii z nanocząstek do fotouczulacza.

W tej części zabrakło mi podsumowania obecnego stanu wiedzy w zakresie podejmowanej przez habilitantkę tematyki badawczej tj.: co zostało już zrobione, czego nadal nie rozumiemy, co jest tematem najnowszych prac w dziedzinie, co należy zrobić i dlaczego,

ze wskazaniem tych obszarów, w których habilitantka wnosi swój największy wkład i z uzasadnieniem dlaczego właśnie te obszary wzbudziły jej szczególnie zainteresowanie i poświęciła im ostatnie lata swojego życia.

Na ile te wybory naukowe były własnymi świadomymi decyzjami, a na ile wynikiem zbiegu okoliczności lub decyzji mentorów. Niektóre z tych wątków pojawiają się wprawdzie fragmentarycznie w dalszej części pracy, niemniej jednak zwarta dyskusja na powyższe tematy pozwoliłaby lepiej zrozumieć motywacje habilitantki przy wyborze kolejnych tematów badawczych oraz lepiej ocenić wagę uzyskanych przez habilitantkę wyników.

Brak tej dyskusji nie ma jednak wpływu na moją merytoryczną ocenę rozprawy. Uważam jednak, że tego rodzaju dyskusja powinna zawierać się w tego rodzaju opracowaniu mającym na celu ocenę samodzielności i dojrzałości naukowej kandydata, dlatego pozwalam sobie na ten komentarz.

W dalszej części autoreferatu, autorka opisuje otrzymane przez nią wyniki opublikowane w renomowanych czasopismach. Wielo-autorski charakter prac nie budzi wątpliwości recenzenta, a przyjęta przez autorkę strategia dt. kolejności autorów jest w pełni zrozumiała.

Na podstawie oświadczeń autorki, nie mam wątpliwości odnośnie dominującej roli dr Bożeny Sikory w powstaniu załączonych prac. Jej twierdzi habilitantka, jej wkład w powstanie tych prac polegał na zdefiniowaniu problemów badawczych, zaplanowaniu i kierowaniu prowadzonymi badaniami, a także w wielu przypadkach na zdobyciu funduszy na przeprowadzenie badań. Dr Sikora brała także udział w eksperymentach komórkowych, ich planowaniu, przygotowaniu oraz interpretacji otrzymanych wyników. Brała także udział czynny udział przygotowaniu szkicu i pracach nad finalnymi wersjami artykułów.

W trakcie prowadzenia badań jakich wyniki zostały opublikowane w pracach A1-A5 Pani dr Sikora osiągnęła kilka interesujących rezultatów badawczych wartych podkreślenia:

- Opracowała metodę połączenia nanocząstek UCNPs z fotouczulaczem, różem bengalskim, polegającą na skróceniu odległości pomiędzy nanocząstką, a barwnikiem.
- Wykorzystała 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.

- Otrzymała nanocząstki Fe_3O_4 domieszkowane jonami Y^{3+} o ulepszonych właściwościach magnetycznych w porównaniu z nanocząstkami niedomieszkowanymi.
- Połączyła nanocząstki UCNPs o właściwościach konwertujących energię w górę otoczone warstwą $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ z nanocząstkami Fe_3O_4 otoczonymi BMPA o właściwościach magnetycznych.

Poniżej zamieszczam skrótowe omówienie załączonych do oceny prac z ewentualnymi uwagami.

Praca [A1], Nanotechnology 31 (2020) 465101, 10str.

BS jako autor korespondencyjny

W pracy tej zademonstrowano skuteczną terapię PDT na poziomie *in vitro* przy użyciu skoniugowanych z RB nanocząstek konwertujących energię w górę $\text{NaYF}_4\text{:2\%Er}^{3+},\text{20\%Yb}^{3+}$, oraz $\text{NaYF}_4\text{:2\%Tm}^{3+},\text{20\%Yb}^{3+}$ przygotowanych metodą rozkładu termicznego o średnim rozmiarze 34 nm. Otrzymane nanocząstki otoczone zostały warstwą SiO_2 oraz SiO_2 zakończoną aminową grupą funkcyjną, w zależności od potrzeb. Tak zmodyfikowane nanocząstki miały średnicę ok 41 nm. Następnie do tak wytworzonej struktury $\text{NaYF}_4\text{:2\%Er}^{3+},\text{20\%Yb}^{3+}@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ przyłączono molekuły fotouczulacza, Rózu Bengalskiego, poprzez utworzenie wiązania amidowego.

Istnienie tego wiązania zostało udowodnione w pomiarach FTIR. W literaturze przyłączanie RB do UCNPs polega zazwyczaj na użyciu kwasu heksanowego (HA) jako linkera pomiędzy tymi dwoma związkami. Użycie HA komplikuje jednak procedurę wytwarzania takich układów i prowadzi do zwiększonej odległości pomiędzy donorem, a akceptorem, ograniczając efektywność procesu transferu energii, a w konsekwencji efektywność wytwarzania ROS. Opracowanie takiego połączenia przy użyciu wiązania amidowego jest więc wkładem autorki w polepszanie wydajności FRET pomiędzy UCNPs, a fotouczulaczem (RB), co bezpośrednio ma związek z wydajnością generowania ROS, a w konsekwencji, z wydajnością terapii PDT. Poprawę PDT potwierdzono poprzez spadek absorpcji indykatora 1O_2 , 1,3-Diphenylo-2-benzofuranu (DPBF), w wodnym roztworze nanocząstek $\text{UCNPs}@\text{SiO}_2\text{-RB}$ ($64\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$) po naświetlaniu laserem 980 nm o mocy 3 W cm^{-2} . W pracy tej, zbadano także, 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.

W pracy tej zabrakło mi wyników pokazujących wysoką dyspergowalność i stabilność koloidalną w czasie dla otrzymanych nanocząstek po modyfikacji tj. NaYF₄:2%Er³⁺,20%Yb³⁺@SiO₂-NH₂ np. przy wykorzystaniu techniki DLS. Z mojego doświadczenia wynika, że dość często proces silanizacji nanocząstek – szczególnie dla tak cienkiego płaszcza jak w tej pracy tj. 3-4 nm – powoduje łączenie się nanocząstek w agregaty. Powstanie takiego agregatu jest bardzo niepożądane z punktu widzenia wprowadzania nanocząstek do wnętrza komórek, a tym bardziej do organizmu żywego *in vivo* ponieważ może stać się przyczyną różnego rodzaju toksyczności.

Praca [A2], RSC Adv., 2017, 7, 30262, 12str.

BS jako ostatni autor

W pracy tej wytworzone i wykorzystane zostały UCNPs domieszkowane jonami Yb³⁺ (rozmiar ok. 15 nm) i Tm³⁺ (rozmiar ok. 26 nm) pokryte SiO₂ (grubość płaszcza ok. 3 nm). W pracy tej wykonano badania cytotoksyczności, które wykazały, że wszystkie przygotowane nanomateriały są nietoksyczne nawet w stosunkowo wysokim stężeniu (50 µg ml⁻¹) przy 48-godzinnej inkubacji na podstawie testów MTT na komórkach raka szyjki macicy HeLa. Pokazano także, że dla tych nanocząstek pod wpływem naświetlania laserem 980 nm możliwe jest generowanie ROS w środowisku wodnym.

Podobnie jak w pracy poprzedniej zabrakło mi tutaj danych dotyczących dyspergowalności nanocząstek. W szczególności, że na Rys. 2c widać tworzenie się mostków krzemionkowych pomiędzy nanocząstkami UCNPs, co sugeruje powstawanie takich agregatów.

Praca [A3], Nanotechnology 32 (2021) 475101, 10str.

BS jako ostatni autor korespondencyjny

W badaniach opisanych w tej pracy testowano na żywych komórkach nowotworowych 4T1 nanocząstki UCNPs domieszkowane jonami Yb³⁺ i Tm³⁺ (średnica 22 nm) pokryte SiO₂ (grubość płaszcza ok. 3 nm), jako alternatywę dla nanokryształów UCNPs modyfikowanych PS wykorzystywanych w terapii PDT. Pokazano, że po 24 godzinach od naświetlania przeżywalność komórek spadła do poniżej 10%, co dowodziło bardzo dobrej efektywności

terapii. W pracy tej zmodyfikowano powierzchnię nanocząstek UCNPs:NaYF₄:0,2%Tm³⁺,20%Yb³⁺@SiO₂ modyfikowanych silan-PEG-NHS 2000 i dołączone zostało przeciwciało anti-human IgG (anti-h-IgG).

Celem pracy było pokazanie potencjału takiego układu materiałowego w terapii PDT w układach *in vivo*. Bardzo interesującym byłoby przeprowadzenie podobnych badań dla identycznych komórek ale przykrytych tkanką mięśniową i skórą, w celu pokazania zasadności przesłanek dla takiego podejścia. Czy użyta moc 2W/cm² lasera 980 nm jest nadal wystarczająca do uzyskania podobnego efektu? Co będzie pierwsze, poparzenie skóry laserem czy mierzalna aktywacja reaktywnego tlenu w komórkach? Uważam, że badania aspirujące do aplikacyjnych (przeznaczenie w terapii) powinny stosować zasadę top-down tj. w pierwszej kolejności sprawdzać możliwość stosowalności danego materiału do danej aplikacji, a następnie badać szczegółowe aspekty stosowalności takie jak np. cytotoksyczność. W pracy, oraz w komentarzu do pracy, nie znalazłem przekonujących danych, że takie podejście tj. wykorzystanie UCNPs do PDT ma szanse na wdrożenie kliniczne.

Praca [A4], J. Phys. Chem. C 2020, 124, 6871, 13str.

BS jako ostatni autor korespondencyjny

W pracy tej przedstawiono wyniki badań dotyczących syntezy nanocząstek Fe₃O₄ domieszkowanych jonami Y³⁺ (0%, 0.1%, 1% i 10%) o właściwościach magnetycznych, w celu zbadania ich potencjału do wykorzystania w obrazowaniu MRI, a także do ogrzewania tkanek poprzez wzrost temperatury otoczenia nanocząstek umieszczonych w zmiennym polu magnetycznym tzw. hipertermia magnetyczna lub pod wpływem naświetlania laserowego z zakresu bliskiej podczerwieni tzw. terapia fototermiczna.

Otrzymano nanocząstki z zakresu od 18 do 170 nm w zależności od stopnia ich domieszkowania Y³⁺. W celu potwierdzenia przydatności otrzymanych nanomateriałów do terapii wykonano pomiary hipertermii magnetycznej wodnych roztworów otrzymanych nanocząstek magnetycznych, wyznaczono wartości specyficznego współczynnika absorpcji (SAR) i rzeczywistej straty mocy (ILP). Zbadano cytotoksyczność otrzymanych nanomateriałów wykazując ich niską cytotoksycznością komórkową nawet przy relatywnie wysokich stężeniach, 35 µg ml⁻¹. Pokazano, że możliwe jest otrzymanie nanocząstek o lepszych właściwościach magnetycznych od nanocząstek Fe₃O₄ poprzez domieszkowanie ich jonami Y³⁺.

Jedną z wątpliwość jaka nasunęła się recenzentowi odnośnie wyników otrzymanych dla tej pracy związana jest z dość słabą jakością morfologiczną otrzymanych nanostruktur. W szczególności dla nanocząstek zawierających 10% domieszki jednorodność otrzymanych nanocząstek jest bardzo niska, a rozrzut rozmiarów nanocząstek w obrębie jednej próbki waha się od ok 70 do 250 nm. Wiadomym jest, że wchłanianie nanocząstek (i w ogólności ich transport in vivo) przez komórki dość mocno zależy od ich rozmiaru. Przy tak dużym rozrzucie rozmiarów nanocząstek istnieje ryzyko wchłaniania/transportu nanocząstek kilkoma różnymi mechanizmami jednocześnie, co może utrudnić wiarygodną interpretację wyników.

Interesującym dla recenzenta, który nie jest na bieżąco z regulacjami dt. tego rodzaju nanomateriału, byłoby skomentowanie w miejscu omawiania wyników prac związanych z nanocząstkami Fe_2O_3 projektowanymi m.in. do wykorzystania w obrazowaniu MRI, aspektu ich bezpieczeństwa. Chcąc zaspokoić swoją ciekawość w tym zakresie recenzent zadał takie pytanie SI i otrzymał następującą odpowiedź: *FDA zatwierdziła nanocząstki tlenku żelaza, takie jak ferumoksytol, do leczenia niedokrwistości z niedoboru żelaza, ich stosowanie jako środków kontrastowych w MRI pozostaje poza oficjalnymi wskazaniami (off-label). Każde takie zastosowanie powinno być przeprowadzane pod ścisłym nadzorem medycznym, z przestrzeganiem wytycznych bezpieczeństwa w celu zminimalizowania potencjalnych ryzyk.*

Praca [A5], Journal of Magnetism and Magnetic Materials 591 (2024) 171714, 11str.

BS jako pierwszy autor korespondencyjny

Praca ta dotyczyła otrzymania nanostruktur hybrydowych składających się z UCNPs ($\text{NaYF}_4:2\%\text{Er}^{3+}$, $20\%\text{Yb}^{3+}$) otoczonych warstwą SiO_2 , do której kowalencyjnie przyłączono sfunkcjonalizowane nanocząstki Fe_3O_4 (UCNPs@ SiO_2 @ Fe_3O_4). Pokazano, że pod wpływem naświetlania laserem NIR takie nanokonstrukty mogą jednocześnie być zastosowane w terapii fototermicznej i obrazowaniu poprzez luminescencję związaną z konwersją energii w górę.

W drugiej części autoreferatu Pani dr Bożena Sikora przedstawia rezultaty prac związanych z drugim osiągnięciem naukowym tj. **Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a strukturami biologicznymi (komórki i tkanki).** Do głównych osiągnięć związanych z zakresem badań opisanych w pracach B1-B3 można wymienić następujące:

- ustalenie mechanizmu oddziaływania pomiędzy nieorganicznymi nanocząstkami UCNPs, a materiałem biologicznym (komórki oraz tkanki),
- wykorzystując techniki TEM, IC-PMS, oraz mikroskopię konfokalną określiła mechanizm internalizacji UCNPs przez komórki Hela oraz tkanki hipokampa szczura,
- określona została lokalizacja nanostruktur w endosomach i lizosomach we wszystkich badanych komórkach (komórkach HeLa i komórkach nerwowych).

Praca [B1], Nanoscale, 2017, 9, 14259, 13str.

BS jako pierwszy autor korespondencyjny

W pracy tej zbadano mechanizm internalizacji i cytotoksyczności UCNPs na trzech liniach komórkowych (HeLa, HEK293 i astrocyty) i pokazano brak cytotoksyczności UCNPs nawet przy stosunkowo wysokich stężeniach UCNPs, do 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Zaproponowano także, że UCNPs wchodziły do komórek głównie w wyniku endocytozy za pośrednictwem klatryny. Natomiast ich wydalanie z komórek odbywało się na drodze egzocytozy lizosomalnej. Pokazano także, że UCNPs wykazały kolokalizację w odrębnych organellach komórkowych.

Praca [B2], Nanomedicine 2023, 26str.

BS jako ostatni autor korespondencyjny

Praca ta dotyczyła badania interakcji pomiędzy UCNPs, a komórkami HeLa. Na podstawie wyników badań zaproponowano dwa główne mechanizmy endocytozy, z udziałem klatryny i kaweoli. Pokazano także, że po dodaniu UCNPs do komórek, w obszarach kontaktu UCNPs z błoną plazmatyczną powstają liczne wgłębienia. Następnie te fragmenty błony komórkowej wpuklały się do wnętrza cytoplazmy tworząc wewnątrzkomórkowe (endocytarne) pęcherzyki zawierające UCNPs.

Pokazano także, że brak jest dowodów na akumulację nanocząstek w innych organellach komórkowych, np. mitochondriach, co może sugerować brak istotnych zmian w funkcjach biologicznych związanych z metabolizmem komórkowym i jest zjawiskiem pożądanym.

Wykluczone zostało także przenikanie UCNPs przez błonę komórkową na drodze transportu biernego, co jest istotną informacją w kontekście ich kontrolowanego dostarczania.

Praca [B3], Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 1122, 16str.

BS jako ostatni autor korespondencyjny

Celem badań przedstawionych w tej pracy była ocena interakcji biologicznych pomiędzy UCNPs, a modelem OHSC *ex vivo*, (ang. Organotypic Hippocampal Slice Cultures, OHSC). Przy wykorzystaniu metody obrazowania TEM potwierdzono obecność dużych skupisk UCNPs zamkniętych wewnątrz struktur pęcherzykowych obecnych w neuronach, nie zaobserwowano UCNPs w cytoplazmie komórek ani wewnątrz innych organelli komórkowych. Na podstawie otrzymanych wyników wykazano, że UCNPs były transportowane do wnętrza komórek w procesie endocytozy. Tym samym zaproponowano, że OHSC mogą stać się skutecznym modelem do testowania różnych strategii terapeutycznych chorób neurologicznych z wykorzystaniem nanostruktur.

Podsumowanie

Podsumowując zaprezentowane w załączonych do wniosku pracach wyniki badań uważam, że najistotniejszy wkład do badań z zakresu nanonauki i badań nanomateriałów mają wyniki badań otrzymane przez dr Sikorę przedstawione w drugiej części rozprawy, związane z badaniem oddziaływań otrzymywanych przez nią nanomateriałów z układami biologicznymi tj. prace B1-B3. Zrozumienie tych oddziaływań – biodystrybucja nanomateriałów, ich akumulacja, mechanizmy wchłaniania czy wpływ ich na życiowe funkcje komórki są kluczowe w przypadku zamiaru wykorzystania nanomateriałów do badań podstawowych *in vitro* układów biologicznych. Dobre zrozumienie tych oddziaływań oraz spójna metodologia prowadzenia takich badań pozwolić mogą na wyciąganie wiarygodnych wniosków z badań nad układami złożonymi jakim są układy biologiczne. Wiarygodne wyniki takich badań pomóc mogą w odpowiedzi na pytania, które pozostają w tej dziedzinie bez odpowiedzi (jakie?).

Uważam, że bardzo wysoka wartość otrzymanych w tych pracach wyników wynika głównie z połączenia w tych badaniach technik pomiarowych TEM z optycznymi technikami obrazowania oraz interdyscyplinarnego wykształcenia habilitantki. Kombinacja tych technik i wszechstronnej wiedzy Pani dr Sikory pozwoliły wyciągać wiarygodne wnioski, względem bardzo dużego szumu informacyjnego jaki panuje obecnie w tym obszarze badań.

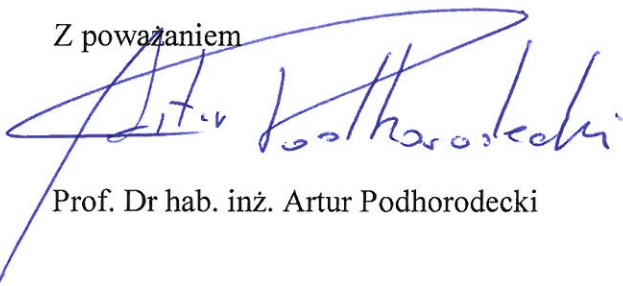
Wyniki przedstawione w pierwszej części rozprawy także uważam za wartościowe. Na ich podstawie można stwierdzić, że dr Bożena Sikora posiada umiejętności otrzymywania wysokiej jakości nanokryształów konwertujących energię w górę oraz posiada umiejętności modyfikacji powierzchni takich nanomateriałów w kierunku ich wykorzystania w badaniach biologicznych. Umiejętności te pozwalają jej na prowadzenie kreatywnych badań jak np. te związane z łączeniem układów UCNPs z nanocząstkami magnetycznymi. Można także stwierdzić, że potrafi ona stosować podstawowe metody badania takich nanomateriałów – zarówno spektroskopowe jak i strukturalne – i wyciągać z otrzymanych wyników poprawne, podstawowe wnioski.

Biorąc zatem pod uwagę wyżej przedstawione do oceny:

- cykl publikacji zatytułowany: *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)*
- dorobek naukowy,
- działalność dydaktyczną oraz organizacyjną,

stwierdzam, iż w mojej ocenie Pani dr Bożena Sikora-Dobrowolska spełnia ustawowe wymogi stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego art. 219 ust. 1 pkt. 2 oraz pkt. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.). Wnioskuje zatem o dopuszczenie Pani Dr Bożeny Sikory-Dobrowolskiej do dalszych etapów zmierzających do nadania jej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych w dyscyplinie nauki fizyczne.

Z poważaniem



Prof. Dr hab. inż. Artur Podhorodecki