

Dr hab. Paweł Pomorski, prof. Instytutu
Instytutu Biologii Doświadczalnej
im. Marcelego Nenckiego,
Polska Akademia Nauk

12 lutego 2025

Ocena merytoryczna i metodologiczna rozprawy oraz ocena dorobku naukowego i aktywności naukowej dr Bożeny Sikory-Dobrowolskiej w postępowaniu habilitacyjnym.

Dostarczona dokumentacja do oceny składa się z wniosku oraz autoreferatu zawierającego krótki wstęp, po którym następuje opis dwóch osiągnięć naukowych dr Bożeny Sikory-Dobrowolskiej. Pierwszego, składającego się z pięciu artykułów, zatytułowanego „Zaprojektowanie, wytwarzanie i charakteryzacja wielofunkcyjnych nanocząstek opto-magnetycznych o ulepszonych właściwościach fizykochemicznych w kontekście ich potencjalnych zastosowań biologicznych i medycznych” i drugiego, składającego się z trzech artykułów, zatytułowanego „Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a strukturami biologicznymi (komórki i tkanki)”. Wszystkie artykuły są pokrótce omówione i poprowadzona jest logiczna linia rozumowania, łącząca każdy z zestawów w spójną całość. Ponadto w skład dokumentacji wchodzi wykaz innych osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych, wykazu sfinansowanych projektów badawczych oraz listy wszystkich publikacji dr Bożeny Sikory-Dobrowolskiej. Dokumentacja jest dwujęzyczna i dostarczona w wersji polskiej oraz angielskiej, z wyjątkiem skanu dyplomu doktorskiego, wystawionego w języku polskim. Dokumentacja została dostarczona w wersji elektronicznej. Integralną częścią jest zbiór ośmiu publikacji stanowiących osiągnięcia habilitacyjne oraz oświadczenia współautorów prac wchodzących w ich skład a dotyczących roli poszczególnych autorów w tworzeniu rękopisów. Powyższa dokumentacja jest zgodna Ustawą Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (z dnia 20 lipca 2018).

Sylwetka Habilitantki

Doktor Bożena Sikora-Dobrowolska ukończyła w roku 2008 Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Tematem jej pracy była aktywność antyoksydacyjnej neuroprzebieżników. Praca została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Grzegorza Litwinienko. Następnie dr Bożena Sikora-Dobrowolska ukończyła studia podyplomowe z prawa dowodowego, kryminalistyki oraz nauk pokrewnych w Centrum Nauk Sądowych Uniwersytetu Warszawskiego. Swą edukację zakończyła doktoratem zatytułowanym „Zaprojektowanie i scharakteryzowanie biosensorów opartych na koloidalnych nanocząstkach do zastosowań w biologii i medycynie”, obronionym w Instytucie Fizyki PAN w Warszawie pod kierunkiem prof. Daneka Elbauma. Praca została obroniona z wyróżnieniem. Od tego czasu pracuje jako adiunkt w Środowiskowym Laboratorium Fizyki Biologicznej w Instytucie Fizyki, Polskiej Akademii Nauk. Doktor Bożena Sikora-Dobrowolska odbyła również krótkoterminowe staże naukowe, dwa tygodniowe staże 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 Szwajcarii, dwa dwumiesięczne staże w Brazylii, w Instituto de Física, NFFCLEO de Física Aplicada Universidade de Brasília oraz w Depto de Genética e Morfologia CNANO - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília i miesięczny staż w School of Automation, Huazhong University of Science and Technology w Wuhan w Chinach. Od roku 2017 doktorantka zajmuje się również pracą dydaktyczną jako wykładowca w Wyższej Szkole Inżynierii i Zdrowia w Warszawie.

Według Bazy Web of Science Habilitantka jest współautorem 28 prac cytowanych 384 razy (index H=13). Taki dorobek publikacyjny stanowi bardzo dobry wynik na tym etapie kariery.

Omówienie i ocena osiągnięć naukowych stanowiących znaczny wkład rozwój dyscypliny

W skład Osiągnięć Naukowych Habilitantki wchodzi aż osiem oryginalnych prac doświadczalnych, opublikowane w międzynarodowych czasopismach naukowych są one zgrupowane w dwa spójne bloki tematyczne:

Cykl „Zaprojektowanie, wytwarzanie i charakteryzacja wielofunkcyjnych nanocząstek opto-magnetycznych o ulepszonych właściwościach fizykochemicznych w kontekście ich potencjalnych zastosowań biologicznych i medycznych” zawiera pięć prac doświadczalnych, poświęconych nanocząstkom o potencjalnych zastosowaniach terapeutycznych i diagnostycznych. Warto tu zwrócić uwagę, że w czterech z pięciu prac habilitantka jest ostatnim autorem a w jednej, pierwszym.

Praca „Unmodified Rose Bengal photosensitizer conjugated with NaYF₄:Yb,Er upconverting nanoparticles for efficient photodynamic therapy” ma na celu wykazanie, że zastosowanie nanocząsteczek domieszkowanych metalami ziem rzadkich może pozwolić na użycie światła podczerwonego w terapii fotodynamicznej nowotworów. Terapia ta pozwala

na bardzo precyzyjne niszczenie komórek nowotworowych przez oświetlanie światłem ultrafioletowym lub widzialnym, odpowiednio dobranego fotouczulacza, który pobudzony, będzie generował wolne rodniki i zabijał napromienione komórki. Metoda to pozwala na dużą selektywność, gdyż z jednej strony można wpływać na to, w których komórkach znajdują się cząsteczki fotouczulacza a z drugiej, selektywnie je oświetlać. Wadą takiej terapii jest fakt, że światło widzialne słabo penetruje tkanki a światło ultrafioletowe nie wnika w nie prawie wcale. Terapia ta była zatem ograniczona do nowotworów skóry. Zastosowanie promieniowania podczerwonego zwiększyło by znacznie zakres jej stosowania w onkologii. Habilitantka proponuje zastosowanie nanocząstek domieszkowanych erbu, itru, iterbu i tulu do zamiany licznych fotonów podczerwonych na mniej liczne ultrafioletowe. Zastosowawszy własną, nowatorską metodę wiązania nanocząstek z fotouczulaczem, tu różem bengalskim, wykazała, że oświetlając roztwór takiego konstruktów światłem podczerwonym doprowadza do znaczącej produkcji wolnych rodników tlenowych. Wynik ten został potwierdzony w teście przeżywalności mysich komórek raka piersi 4T1, napromieniowanych daleką podczerwienią, co powodowało śmierć do 65% komórek. Pracę można uznać za bardzo udany „proof of concept”, choć droga do praktycznego zastosowania wydaje się daleka.

Druga praca cyklu, zatytułowana „Upconversion fluorescence imaging of HeLa cells using ROS generating SiO₂-coated lanthanide-doped NaYF₄ nanoconstructs”, stanowi pierwszy krok w kierunku opracowania nanocząstek, które same będą odpowiedzialne za generowanie wolnych rodników tlenowych. Wykazano, że nanocząstki domieszkowane iterbem i tulem są w stanie generować wolne rodniki tlenowe pod nieobecność znanych, tradycyjnych fotouczulaczy. Habilitantka wykazała też, że same nanocząstki wnikają do komórek i nie zmieniają przez to ich przeżywalności.

Praca „The ROS-generating photosensitizer - free NaYF₄:Yb,Tm@SiO₂ upconverting nanoparticles for photodynamic therapy application” stanowi logiczny, następny krok po poprzedniej pracy. Aż dziwne, że te wyniki zostały podzielone, razem stanowią bardzo mocny argument za użyciem nanocząstek w terapii fotodynamicznej. Habilitantka powtórzyła tu doświadczenia na komórkach raka piersi 4T1 z pierwszej pracy, korzystając jednak z cząstek opisanych w pracy drugiej. Wyniki są więcej niż obiecujące i nanocząstki prowadzą do większej śmiertelności komórek niż ich odpowiedniki funkcjonalizowane różem bengalskim. Dodatkowo, habilitantka w tej pracy pokazuje, jak można użyć krzemionkowej otoczki nanocząstek do funkcjonalizacji ich białkiem, co może służyć do kierowania nanocząstek do wybranych komórek czy też kompartmentów subkomórkowych.

Praca „Yttrium-Doped Iron Oxide Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Applications” opisuje alternatywne podejście do osiągnięcia selektywnej cytotoksyczności przy użyciu nanocząstek. Nanocząstki tlenku żelaza domieszkowane itrem, umieszczone w zmiennym polu magnetycznym wykazują zdolność do lokalnego podgrzewania otoczenia. Zaobserwowano, że stopień domieszkowania itrem jest kluczowy dla wydajności efektu termicznego.

Wykazano również, że sama obecność takich cząstek w komórce nie wywołuje istotnego efektu cytotoksycznego. Poddanie komórek, do których wprowadzono nanocząstki polu zmiennemu magnetycznemu spowodowało wzrost śmiertelności komórek i wzrost ten był zależny od ilości itru w nanocząstkach.

Praca „Opto-magnetic nanoparticles with upconverting properties for optical imaging and photothermal therapies” pokazuje, że w jednej nanocząstce można połączyć własności optyczne domieszkowania metalami ziem rzadkich z własnościami magnetycznymi i termicznymi tlenków żelaza. Powstające nanocząstki nie miały toksycznego wpływu na komórki i wykazywały w nich luminescencje.

Warto zwrócić uwagę na to, ile uwagi habilitantka poświęciła zdolności badanych cząsteczek do emisji światła wyżej energetycznego niż światło pochłonięte. Ta zdolność ma co najmniej dwie wielkie zalety: pozwala na lokalną emisję światła wysokoenergetycznego, nie narażając na kontakt z nim tkanek znajdujących się pomiędzy powierzchnią organizmu a miejscem, gdzie chcemy wywołać efekt. Użycie niskoenergetycznego światła wzbudzającego pozwala także na głębszą penetrację tkanek. Pewna niespójność da się jedynie obserwować w użytych długościach fali światła wzbudzającego. Długość fali 980 nm nie jest optymalna do użycia w żywych organizmach. Takie promieniowanie jest silnie pochłaniane przez wodę i trudne do wykorzystania w praktyce.

Cykl „Mechanizm interakcji pomiędzy ciałem stałym (nanocząstki UCNPs) a strukturami biologicznymi (komórki i tkanki)” zawiera trzy prace i poświęcony jest naturalnym szlakom internalizacji Nanocząstek do komórek i ich dalszych losów wewnątrz komórek i jest komplementarny wobec pierwszego cyklu.

Praca „Mammalian cell defence mechanisms against the cytotoxicity of $\text{NaYF}_4:(\text{Er}, \text{Yb}, \text{Gd})$ nanoparticles” w pewnym sensie powtarza, rozwija i podsumowuje cząstkowe wyniki prac z pierwszej grupy prac. Habilitantka koncentruje się tu na wykazaniu wnikania nanocząstek do żywych komórek i gruntownej analizie ich cytotoksyczności. Praca porównuje trzy linie komórkowe: HeLa, HEK293 i pierwotną hodowlę astrocytów. Wyniki podjętych doświadczeń potwierdzają zdolność nanocząsteczek do wnikania do żywych komórek i wykazuje, że przynajmniej krótkookresowo nie ma to dla komórek poważnych konsekwencji. Badane nanocząstki pozostają aktywne po wnikięciu do komórek.

Praca „Nano–bio interactions of upconversion nanoparticles at subcellular level: biodistribution and cytotoxicity” jest próbą ustalenia mechanizmu wnikania nanocząstek do komórki i ich dalszych losów. Habilitantka używa tu inhibitorów znanych procesów endocytotycznych do scharakteryzowania endocytozy nanocząstek. Nie są to doświadczenia finezyjne, ale często używane w badaniu tego typu zjawisk. Uzyskane wyniki nie odbiegają od konsensusu literaturowego. Habilitantka wskazuje na endocytozę zależną od klatryny i endocytozę zależną od kaweoli, jako podstawowe mechanizmy, co nie jest niczym nowym w roku 2023, gdy praca powstawała. Doświadczenia nie wskazały

na również powszechnie rozważany mechanizm makropinocytozy, co może być skutkiem wspomnianego braku finezji. Amylorid, używany do blokowania makropinocytozy jest po prostu słabym inhibitorem i jego działanie mogło umknąć uwadze. Część pracy, dotycząca wewnątrzkomórkowych losów nanocząsteczek wykorzystuje głównie metody mikroskopii elektronowej i dowodzi, że habilitantka nie tylko charakteryzuje się zdolnościami intelektualnymi, ale też posiada wiele cierpliwości.

Praca „Upconverting Nanoparticles as a New Bio-Imaging Strategy—Investigating Intracellular Trafficking of Endogenous Processes in Neural Tissue” pokazuje, że wnikanie nanocząstek do komórek można również śledzić na poziomie tkanek, wykorzystując skrawki hipokampalne jako model badawczy.

Oba cykle prac są spójne i uzupełniają się wzajemnie i zawierają bardzo wielką ilość rzetelnie pozyskanych wyników doświadczalnych. Prace pokazują, że nanocząstki są bardzo obiecującymi efektorami, których można używać do manipulowania mikrośrodowiskiem subkomórkowym. Mają one pewien potencjał rozwojowy, jako podstawa przyszłych terapii, jednak liczba problemów jakie trzeba by rozwiązać przed rozwinięciem praktycznych terapii wydaje się spora. Tu nasuwa się pewna słabość przedstawionych osiągnięć. W żadnym z zestawów prac nie ma pracy przeglądowej o charakterze monograficznym. Biegłość doświadczalną powinniśmy wykazać już na poziomie doktoratu i habilitacji, jeśli nie ma być rodzajem „superdoktoratu”, powinna zawierać element refleksji nad badanym obszarem rzeczywistości, połączonym z dowodem erudycji.

Ocena pozostałego dorobku naukowego Habilitanta

Doktor Bożena Sikora-Dobrowolska posiada imponujący warsztat badawczy z szeregu dziedzin poczynawszy od chemii a skończywszy szeroko pojętej biologii komórki, który pozwala jej na badania o dużym stopniu interdyscyplinarności. Habilitantka równie sprawnie przygotowuje nanocząstki o dużym stopniu złożoności jak bada ich aktywność biologiczną. Jest również ekspertem w dziedzinie mikroskopii zarówno optycznej jak i elektronowej. Można podsumować, że jest ona bardzo sprawnym technicznie badaczem, posiadającym dostęp do szerokiego wachlarza nowoczesnych metod używanych w badaniach nad nanocząstkami zarówno na poziomie komórkowym jak tkankowym.

Doktor Bożena Sikora-Dobrowolska była kierownikiem w projekcie SONATA 8 finansowanego przez NCN. Projekt „Synteza wielofunkcyjnych nanocząstek up-konwertujących oraz badanie mechanizmów generowania reaktywnych form tlenu z nanocząstek w obecności fotouczulaczy i ich oddziaływania z materiałami biologicznymi” pozwolił jej na przeprowadzenie wielu z opisanych poprzednio badań.

Doktor Bożena Sikora-Dobrowolska jest również aktywnym nauczycielem akademickim, co nie jest oczywiste w przypadku pracowników Polskiej Akademii Nauk. Kontakt ze studentami zawsze służy poszerzaniu wymaga wiedzy szerszej niż ścisła specjalizacja badawcza, co jest kluczowe dla samodzielności naukowej, którą daje stopień doktora habilitowanego.

Doktor Bożena Sikora-Dobrowolska bierze aktywny udział w działalności społecznej i popularyzatorskiej. Nie uchyla się też od pracy recenzenta licznych czasopismach naukowych, co dziś przestaje być oczywistością a jest aktywnością kluczową dla istnienia społeczności naukowej.

Za swe osiągnięcia była wielokrotnie nagradzana, uzyskała między innymi 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” na Targach Techniki Przemysłowej, Nauki i Innowacji "Technicon Innowacje" w Gdańsku. To pokazuje, że prowadzone przez nią badania są dostrzegane poza środowiskiem naukowym.

Doktor Bożena Sikora-Dobrowolska ma również w swoim dorobku patent nr. P.401873 „Sposób wytwarzania nanoprośzków o własnościach luminescencyjno-magnetycznych oraz nanoparoszek wytworzony tym sposobem”, uzyskany w roku 2014. Uzyskanie patentu jest świadectwem, że metody wytwarzania opisanych nanocząstek są unikalne, co podnosi rangę opisanych powyżej osiągnięć.

Podsumowanie i ocena końcowa

Doktor Bożena Sikora-Dobrowolska posiada stopień doktora, przez co spełnia pierwsze kryterium wymagane do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1668 z p. zm.). Dokładna analiza dorobku naukowego doktor Bożeny Sikory-Dobrowolskiej pozwala stwierdzić, że Jej osiągnięcia naukowe spełniają z nawiązką wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego zgodnie z drugim kryterium wzmiankowanej ustawy. Pewne wątpliwości mogłoby budzić spełnienie trzeciej przesłanki, wynikającej z ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, która stanowi że wymagane jest uczestnictwo w pracach zespołów (co najmniej dwóch zespołów) badawczych realizujących projekty (co najmniej dwa projekty). Jako, że jednak wszelkie wątpliwości powinny być interpretowane na korzyść ocenianego, trzeba uznać, że praca „Upconversion fluorescence imaging of HeLa cells using ROS generating SiO_2 -coated lanthanidedoped $NaYF_4$ nanoconstructs”, napisana wspólnie z badaczami z Brazylii, powinna być uznana za spełniającą powyższą przesłankę, zwłaszcza, że stażach w Brazylii odbywał się w ramach grantu EU Research Project FP7-People-2012-IRSES-BRASINOEU, czyli był finansowany z innego źródła niż SONATA NCN, realizowana przez habilitantkę. Biorąc

pod uwagę powyższe fakty, popieram wniosek o nadanie doktorowi stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki fizyczne i wnioskuję o dopuszczenie doktor Bożenę Sikorę-Dobrowolską do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

dr hab. Paweł Pomorski, prof. inst.