



Kraków, 4 kwietnia 2024

WYDZIAŁ BIOCHEMII, BIOFIZYKI I BIOTECHNOLOGII

Zakład Biofizyki

Kierownik

Prof. dr hab. Martyna Elas

**Ocena osiągnięcia naukowego „Nanoterapeutyki w leczeniu raka piersi człowieka- mechanizmy toksyczności nanomateriałów oraz ocena aktywności enkapsulowanych leków” oraz dorobku naukowego Pani doktor Marzeny Szwed**

**Podstawowe dane o kandydatce i przebieg pracy naukowo-zawodowej**

Pani doktor Marzena Szwed uzyskała stopień naukowy doktora nauk biologicznych w 2012 roku na Uniwersytecie Łódzkim. Pracę wykonywała w Katedrze Termobiologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego pod opieką pani prof. dr hab. Zofii Józwiak. Dotyczyła ona Oddziaływania koniugatu doksorubicyny z transferyną na wybrane linie komórkowe białaczki człowieka. Po uzyskaniu stopnia doktora dr Szwed była adiunktem w Katedrze Biofizyki Medycznej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, a następnie odbyła 3-letni staż podoktorski w Institute for Cancer Research, The Norwegian Radium Hospital, w Oslo. Po powrocie do kraju, od 2019 roku była adiunktem w Katedrze Biofizyki Medycznej.

Z przedstawionej przez Habilitantkę dokumentacji nie wynika, żeby ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

**Ocena wskazanego przez kandydatkę osiągnięcia naukowego, czy stanowi ono znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny naukowej**

Osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego zostało zatytułowane „Nanoterapeutyki w leczeniu raka piersi człowieka- mechanizmy toksyczności nanomateriałów oraz ocena aktywności enkapsulowanych leków.” Jest to cykl pięciu publikacji oryginalnych, opublikowanych w latach 2019-2023.

Publikacje te są wieloautorskie. W trzech pracach dr Szwed jest pierwszym, w jednej ostatnim autorem. W dwóch z nich jest autorem korespondencyjnym. W przypadku każdej z tych publikacji kandydatka opisała swój wkład, ponadto dołączyła oświadczenia współautorów. Wkład w przygotowanie tych prac oceniam na 40-70%.

Prace zawarte w osiągnięciu naukowym będącym podstawą wniosku powiązane są wspólnym wątkiem – badaniu nanomateriałów, takich jak liposomy, nanocząsteczki i nanonośniki i ich działania na komórki raka piersi i komórki śródbłonna. Nadrzędny cel prowadzonych badań został klarownie przedstawiony w Autoreferacie i jest przekonujący. Autoreferat zawiera wstęp uzasadniający połączenie prac w jedno osiągnięcie, a następnie ich opis.

Pierwsza z publikacji ukazała się w 2019 roku, w czasopiśmie *Nanotoxicology* i dotyczy interakcji pustych lipidowych nanokapsuł z komórkami ludzkiego raka piersi. Do dziś cytowana była 22 razy (wg bazy Scopus). Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, że spośród 3 przebadanych

ul. Gronostajowa 7

30-387 Kraków

tel. +48 (12) 664 6338

email: martyna.elas@uj.edu.pl

nanokapsuł, nanocząstki POCA były najbardziej cytotoksyczne, a nanocząstki PEBCA najmniej cytotoksyczne oraz że wywoływały stres zależny od ER i odpowiedź UPR komórek oraz aktywację czynników transkrypcyjnych ATF4 i Nrf2. Indukowały one także zintegrowaną odpowiedź komórek na stres (ISR) i indukowały ferroptozę w komórkach potrójnie negatywnego raka piersi.

Druga praca ukazała się w roku 2020 w wysokiej klasy czasopiśmie *Journal of Nanobiotechnology*, 2020, i była cytowana 25 razy (wg Scopus). Poświęcona była badaniu oddziaływania pustych nanokapsuł zbudowanych z trójglicerydów, fosfolipidów i surfaktantu z komórkami raka piersi. Praca we współpracy z ośrodkiem w Oslo. Autorka wykazała, że lipidowe nanokapsuły już po 30 minutach znajdowały się w lizosomach. Ważne było poznanie mechanizmu transportu do komórki między innymi z wykorzystaniem maszynerii endocytarno-lizosomalnej. W wysokich stężeniach (1-2 mg/ml) hamowały proliferację komórek i redukowały znacząco ich żywotność. Indukowały zintegrowaną odpowiedź komórek na stres, a także ferroptozę w komórkach potrójnie negatywnego raka piersi.

Kolejna praca (*International Journal of Pharmaceutics*, 2021) dotyczyła efektywności nanokapsuł o jeszcze innej budowie, w dostarczaniu paklitakselu (PTX) do komórek. Cytowana była 22 razy. Przenoszenie PTX w lipidowych nanokapsułach okazało się skutecznym sposobem dostarczenia leku do komórek nowotworowych z zachowaniem jego cytotoksycznych właściwości. Internalizacja lipidowych nanokapsuł jest konieczna do uwolnienia się z nich PTX i obniżenia syntezy DNA w komórkach. Głównymi mechanizmami, które sprzyjają akumulowaniu się w komórce lipidowych nanokapsuł są makropinocytoza i endocytoza typu Cdc42/GRAF, które nie wymagają udziału dynaminy. Badania te pokazały także, że traktowanie komórek raka piersi nanokapsułami z PTX prowadzi do ich apoptozy, a w testach *in vivo* okazało się, że lipidowe nanokapsuły są skuteczne w dostarczaniu do ustroju substancji hydrofobowych, w tym leków przeciwnowotworowych.

Publikacja z *Scientific Reports* z 2021 r, cytowana 13 razy, opisuje toksyczność różnych nanocząstek na komórki śródbłonna. Przetestowano cztery różne typy NPs (PLA/MMT/TRASTUZUMAB, PLA/EDTMP, PLGA/MDP oraz micelle Pluronic F127), reprezentujące trzy potencjalne obszary zastosowania: terapię przeciwnowotworową, diagnostykę scyntygraficzną i kosmetologię. Komórki HUVEC-ST wykazywały markery apoptozy po inkubacji z PLA/EDTMP, PLGA/MDP oraz PLA/MMT/TRA. Inkubacja z Pluronic F127 Ms spowodowała typową nekrozę komórek oraz znaczną degradację błony komórkowej. Te NPs były w stanie generować ROS, które pośredniczyły w obniżeniu MMP i wywoływały ekspresję genów zaangażowanych w wewnętrzną ścieżkę apoptozy. Wysokie stężenia NPs wywoływały efekty toksyczne w komórkach HUVEC, wpływając na ich proliferację, homeostazę redoks i dysfunkcję mitochondriów.

Ostatnia praca w cyklu, opublikowana w *Cell* w 2023 r dotyczyła bardzo ciekawych multirdzeniowych nanokapsulek. Były one oparte na rozpuszczalnym w wodzie surfaktancie dodecylosiarczanie sodu (SDS), którego micelle wraz z przeciwnie naładowanym polielektrolitem tworzą kompleks, wykorzystany jako rdzeń nanonośnika. Stabilizowany był on za pomocą PGA, który nadawał nośnikowi ładunek ujemny, poprawiając przy tym jego parametry biologiczne. Mimo że puste multirdzeniowe nanonośniki SDS/PLL i SDS/PLL/PGA były nietoksyczne dla komórek raka piersi, to jednak okazało się, że stosowanie PTX z udziałem tego nośnika nie przyniosło spodziewanych korzyści - stosowany w formie nanopreparatów SDS/PLL/PTX i SDS/PLL/PGA/PTX wykazywał podobną cytotoksyczność wobec ludzkich komórek raka piersi jak wolny PTX. Praca nie była jeszcze cytowana.

Należy podkreślić, że Autorka złożyła zgłoszenie patentowe WIPO ST 10/C PL443843 na temat wykorzystania multirdzeniowych nanokapsuł polielektrolitowych jako nanoprzenośników dla paklitakselu.

W podsumowaniu Autoreferatu widać, że wiele z tych poszukiwań nanonośników wykazało toksyczność w komórkach, szczególnie dla wysokich ich stężeń rzędu 1-2 mg/ml. Wydaje się więc, że nie są to efektywne nośniki, możliwe do zastosowań diagnostycznych, terapeutycznych czy kosmetycznych. W Autoreferacie Habilitantka podkreśliła bardzo ważne mechanizmy wnikania

nanonośników do komórek, jednak właściwie z pominięciem tego negatywnego wątku. Tymczasem w mojej opinii jest to bardzo ważny aspekt. W Autoreferacie oczekiwałam nieco szerszego spojrzenia na poziomie ogólnym niż rozważania związane z rozmiarem nanocząstek (str 36, dot pracy IB-5). Interesujące byłoby wskazanie wszystkich trudności w dziedzinie projektowania nanonośników i ich możliwych rozwiązań. W tym kontekście wniosek na str 38: „istnieją realne szanse na to, że badane przeze mnie nanoterapeutyki mogą zaistnieć jako preparaty stosowane w leczeniu nowotworów” wydaje się przedwczesny.

W badaniach, które stały się podstawą osiągnięcia Habilitantka wykorzystywała cały szereg technik biologii molekularnej, biologii komórki, i chemii fizycznej, włączając w to analizę nanocząsteczek, analizę komórkowych szlaków molekularnych, analizy transportu, hodowle komórkowe i inne. Jej umiejętności pozwalają na prowadzenie samodzielnych badań.

Podsumowując, wyniki przedstawione w osiągnięciu są wielostronne, nie tylko pod względem zastosowanych rozmaitych nanocząsteczek, ale i technik, które wykorzystano do ich analizy. Rezultaty są nowatorskie, ważne i z całą pewnością przyczynią się do zrozumienia mechanizmu działania nanonośników. Przetestowane nanokapsuły, wykazanie ich zalet, a w szczególności wad w oddziaływaniu z komórkami może mieć istotne znaczenie w opracowaniu nowych podejść terapeutycznych. Osiągnięcie oceniam pozytywnie i uznaję, że opisane wyniki znacząco poszerzają dotychczasowy stan wiedzy.

### **Ocena pozostałego dorobku naukowego**

Przed uzyskaniem stopnia doktora Habilitantka opublikowała 11 prac, w tym 3 rozdziały monograficzne i 4 prace przeglądowe, a po uzyskaniu stopnia doktora 27 prac (wraz z osiągnięciem w sumie 32), w tym 3 prace przeglądowe. W momencie złożenia wniosku do Rady Doskonałości, a więc we wrześniu 2023 wszystkie prace cytowane były 353 razy (wg Web of Science), IH wynosił 12 (wg Web of Science). Obecnie cytowane są 463 razy (wg bazy Scopus), a IH wynosi 13.

Publikacje Habilitantki ukazały się w czasopismach polskojęzycznych oraz o międzynarodowym zasięgu, o IF w zakresie do ok 7. Były to czasopisma, takiej klasy jak np. Nutrients, OncoTargets and Therapy, Biomolecules, Scientific Reports, Cancers, Cellular Oncology. W 15 z prac Habilitantka jest pierwszą autorką, w 2 – ostatnią. Prezentowała Ona także wyniki swoich badań na konferencjach naukowych (w sumie 27 razy, w tym 2 wykłady).

### **Informacja o spełnieniu przez kandydatkę kryterium dotyczącego wykazania się istotną aktywnością naukową oraz współpracą z otoczeniem społecznym i gospodarczym**

Aktywność naukowa dr Szwed, oprócz prac naukowych i prezentowania wyników na konferencjach naukowych, obejmuje:

- **mobilność naukową:** 2016-2019 staż podoktorski w Institute for Cancer Research, The Norwegian Radium Hospital, Norwegia, Oslo.
- **współpracę naukową na poziomie krajowymi i międzynarodowym.** W Autoreferacie wyszczególniono szereg jednostek krajowych i zagranicznych, z którymi współpracuje Habilitantka, jak np. Institute for Cancer Research, Oslo University Hospital, Indian Institute of Technology Hyderabad, oraz Laboratory of Nanodrugs Faculty of Pharmacy, Rio de Janeiro Federal University i wiele innych. Nie podano czy współprace te są kontynuowane.
- **udział w realizacji projektów naukowych:** Habilitantka brała udział w realizacji dwóch projektów międzynarodowych podczas swojego stażu w Oslo. Była także wykonawcą w 5 projektach krajowych. Kierowała 4ma projektami wewnętrznymi oraz projektem Miniatura NCN. Brak większego projektu, w którym samodzielnie kierowałaby zespołem, typu Sonata czy Opus.
- **członkostwo w organizacjach i towarzystwach naukowych:** Członkini PTBIOCH, PTBIOF/EBSA, Polskiego Towarzystwa Chorób Metabolicznych oraz Society for Experimental

Biology

- **recenzowanie prac naukowych:** Przygotowała zaledwie 3 recenzje dla Journal of Nanomedicine i Scientific Reports
- **udział w zespołach eksperckich:** brak
- **wyróżnienia przyznane za aktywność naukową:** zdobyła 8 stypendiów na udział w konferencjach i szkoleniach, liczne nagrody wewnętrzne
- **współpraca z otoczeniem społecznym i gospodarczym:** patent i zgłoszenie patentowe, udział w cyklu spotkań pt. „Doktoranci i Młodzi naukowcy dla nauki polskiej” organizowanych przez stowarzyszenie „Creative time” i współautorstwo trzech rozdziałów w monografiach naukowych

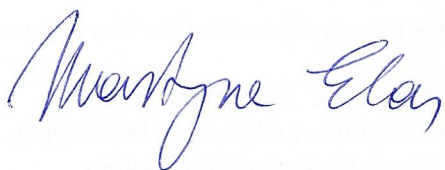
Wyżej wymienione aktywności Habilitantki świadczą o spełnieniu kryterium dotyczącego wykazania się istotną aktywnością naukową. Kandydatka wykazała także wystarczającą aktywność w zakresie współpracy z otoczeniem społecznym i gospodarczym. Można by się spodziewać znaczniejszego zaangażowania w recenzowanie i działalność ekspercką, oraz wykazania się kierowaniem zespołem.

### **Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę**

Dr Marzena Szwed przez cały okres swojej kariery zatrudniona była na stanowisku naukowo-dydaktycznym. Była promotorką 3 prac magisterskich i 1 licencjackiej, współopiekunką 4 prac licencjackich, a także recenzentem prac dyplomowych. Opiekowała się także studentami w ramach ich aktywności w Kole Naukowym Młodych Biofizyków. Prowadziła szeroką działalność dydaktyczną (głównie ćwiczenia). Koordynowała działania w swoim zakładzie. Wielokrotnie brała udział w popularyzacji nauki w UŁ. Brała udział w organizacji 3 konferencji naukowych. Podsumowując, działalność dydaktyczną, organizacyjną i popularyzatorską oceniam pozytywnie.

### **Podsumowanie recenzji – wniosek końcowy**

Pani dr Marzena Szwed przedstawiła wniosek habilitacyjny, którego podstawą jest osiągnięcie naukowe dotyczące dostarczania leków do komórek za pomocą nanonośników. Zaprezentowane wyniki poszerzają stan wiedzy i mogą mieć zastosowanie praktyczne w opracowaniu lepszych nośników leków. Wkład własny Habilitantki w część eksperymentalną i na etapie powstawania publikacji był przeważający. Pani doktor Szwed jest aktywna także w wielu innych aspektach pracy naukowej. Podsumowując, jej działania naukowe stanowią znaczny wkład w rozwój danej dyscypliny i wykazała się istotną aktywnością realizowaną w więcej niż jednej instytucji naukowej. Jej dorobek jest na dobrym poziomie i spełnia główne kryteria określone Ustawą Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r., poz. 742 ze zm., w art. 219 ust. 1 pkt 2), dlatego przedkładam Komisji Habilitacyjnej wniosek o dopuszczenie Pani doktor Marzeny Szwed do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.



Prof. dr hab. Martyna Elas