



UNIwersYTET
WARszawSKI

Wydział Chemii



dr hab. Barbara Wagner, prof. UW
Pracownia Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski
Pasteura 1
02-093 Warszawa

Warszawa, 19.11.2022 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr Natalii Janik-Olchawy

pod tytułem: „Badania *in vitro* toksyczności oraz możliwych efektów terapeutycznych nanocząstek tlenków żelaza”

Przedłożona do recenzji praca doktorska mgr **Natalii Janik-Olchawy** pod tytułem: „Badania *in vitro* toksyczności oraz możliwych efektów terapeutycznych nanocząstek tlenków żelaza” została wykonana w Pracowni Neuropatologii Doświadczalnej Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego i w Katedrze Fizyki Medycznej i Biofizyki Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie pod opieką prof. dr. hab. Zuzanny Setkowicz-Janeczko i dr hab. inż. Joanny Chwiej, prof. uczelni. Opisane badania uzyskały finansowanie w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój, nr projektu POWR.03.02.00-00-I004/16, współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej.

Wartość naukowa rozprawy: Badania *in vitro* toksyczności oraz możliwych efektów terapeutycznych nanocząstek tlenków żelaza zostały przedstawione jako cykl oryginalnych publikacji, składający się z trzech wybranych prac, które są ze sobą jednoznacznie powiązane tematycznie. Wspomniane prace zostały opublikowane w latach 2020-2022 w prestiżowych czasopismach międzynarodowych (IF=4,379-4,996) znajdujących się na liście wysoko punktowanych czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (140 pkt.MNiSW). Z zaprezentowanych oświadczeń pozostałych współautorów wspomnianych prac, wynika jednoznacznie, że mgr Natalia Janik-Olchawa samodzielnie opracowała koncepcję opisanych badań, przeprowadziła dominującą część eksperymentalną, a także w sposób dojrzały dokonała naukowej analizy otrzymanych wyników. Poza publikacjami, w których mgr Natalia Janik-Olchawa jest pierwszym autorem i które zostały wskazane jako osiągnięcie stanowiące istotę ubiegania się o stopień doktora, jej naukowy dorobek to kolejne 4 publikacje z listy filadelfijskiej. Choć te artykuły nie zostały włączone do prezentowanego

cyklu, należy wspomnieć o tym, że także ukazały się w uznanych, recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Moim zdaniem historia publikowania prac naukowych mgr Natalii Janik-Olchawy może być wyznacznikiem jej samodzielności wzrastającej w miarę realizowania doktoratu.

Struktura recenzowanej pracy doktorskiej: powstała jako zbiór artykułów poprzedzonych listą publikacji (str.5), wymaganym streszczeniem w języku polskim (str.6) i angielskim (str.7). Krótki wstęp do pracy (str.8-10) poprzedza opis stawianych celów badawczych (str.11), które zostały w tym miejscu jasno sformułowane. Metodyka przedstawionych eksperymentów i omówienie publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej zostały ujęte w kolejnych rozdziałach pracy (str.12-32) i poprzedzają wyczerpującą bibliografię (str.33-40), na którą składa się lista 98 aktualnych pozycji literaturowych. Pracę zamykają skany oryginalnych wersji wybranych mono-tematycznych artykułów naukowych (str.41-85) oraz wymagane oświadczenia współautorów (str.86-103), które doprecyzowują wkład mgr Natalii Janik-Olchawy w zakres realizacji badań opisanych w wybranych artykułach.

Praca posiada czytelną strukturę. Mam drobne uwagi dotyczące edycji wykresów, które nie musiały przecież odtwarzać układów znanych z publikacji. Wydaje mi się, że wykresy mogły zostać przedstawione jako większe rysunki. Pozwoliłoby to na większą swobodę czytania wyników, dla których stanowiły ilustrację.

Wartość merytoryczna rozprawy: recenzowana rozprawa doktorska dotyczy bardzo aktualnej tematyki naukowej, która obejmuje badania związane z poszukiwaniem nowych sposobów wytwarzania oraz coraz szerszych obszarów późniejszego wykorzystywania nanocząstek (w tym m.in. omawianych w pracy magnetycznych nanocząstek tlenków żelaza). Wobec powszechnie rosnącego zainteresowania możliwościami praktycznego wykorzystania nanomateriałów w medycynie, m.in. w terapii przeciwnowotworowej, konieczne jest monitorowanie ewentualnego zagrożenia wynikającego z odmiennych mechanizmów zachowania nanocząstek, względem organizmów żywych niż w przypadku dotychczas stosowanych materiałów. Szczególnie istotne wydaje się obecnie dopracowanie scenariuszy kontrolowania bezpieczeństwa zastosowań biomedycznych, w których entuzjazm zwolenników i sceptycyzm przeciwników nowatorskich terapii wykorzystujących nanocząstki powinny spotkać się na płaszczyźnie dyskusji naukowej. Z tego powodu praca mgr Natalii Janik-Olchawy posiada ogromną wartość merytoryczną, opisując naukowe, systematyczne podejście eksperymentalne. Praca została poświęcona próbie dokonania szczegółowego opisu zachowania różnych dawek wybranych nanomateriałów w celu określenia ich potencjalnie toksycznego, bądź terapeutycznego działania w warunkach *in vitro* przy różnych czasach inkubacji. Bardzo starannie zaplanowane eksperymenty pozwoliły na porównanie wpływu Fe podawanego w postaci albo nanocząstek magnetytu albo roztworu soli żelaza (II,III) na

hodowle komórkowe i ocenę bezpieczeństwa ich stosowania dla układów biologicznych. Zmiany biochemiczne wywołane w wybranych komórkach przez nanocząstki tlenków żelaza ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Fe}_2\text{O}_3$) o różnym rozmiarze rdzenia zostały zbadane i ocenione pod kątem toksyczności i biokompatybilności stosowanego materiału w układach biologicznych *in vitro*.

Podczas badań wykorzystane zostały komercyjnie dostępne magnetyczne nanocząstki tlenku żelaza (II, III) o różnych rozmiarach rdzenia ($\phi = 5, 10$ i 30 nm) pokryte glikolem polietylenowym. Poza przeprowadzeniem szeregu testów biologicznych, Doktorantka wykorzystwała szereg instrumentalnych narzędzi analitycznych w celu scharakteryzowania cech fizyko-chemicznych badanych nanomateriałów oraz zmian wywołanych w badanym materiale biologicznym poprzez ich zastosowanie:

1. Transmisyjnej mikroskopii elektronowej do oceny kształtu i rozmiarów rdzenia nanocząstek.
2. Techniki dynamicznego rozpraszania światła do oceny średnicy hydrodynamicznej i potencjału Zeta.
3. Analizy termogravimetrycznej, które pozwoliła na potwierdzenie obecności powłoki polimerowej otaczającej rdzeń nanocząstek tlenków żelaza.
4. Stężenie Fe w medium hodowlanym było oznaczane przy pomocy spektroskopii fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia.
5. Mikrospektroskopia Ramana pozwoliła na określenie zmian biomolekularnych w komórkach po ekspozycji na badane nanomateriały.

Jestem pełna uznania dla decyzji o przeprowadzeniu badań dla aż czterech linii komórkowych. Do tego celu Doktorantka wybrała linie komórkowe z banku Amerykańskiej Kolekcji Hodowli Komórkowych (ATCC):

- a. ludzkie embrionalne komórki nerki HEK293T (ATCC, CRL-3216),
- b. ludzkie komórki glejaka wielopostaciowego U87MG, T98G (ATCC, HTB-14, CRL-1690),
- c. mysie makrofagi MAC (ATCC, CCL-46),
- d. dwie hodowle komórkowe – ludzkich fibroblastów oskrzelowych (NHFL) oraz komórek glejaka wielopostaciowego (KJT231) wyizolowane, odpowiednio, z wycinków bronchoskopowych oraz ludzkiego guza mózgu.

Czy poza stwierdzeniem zróżnicowanych reakcji poszczególnych linii komórkowych na różne formy badanych materiałów można już teraz wnioskować o przyczynach efektów zaobserwowanych podczas eksperymentów?

Jakie to może mieć konsekwencje dla planowania przyszłych badań nad możliwościami wykorzystania nanomateriałów, które zostały uwzględnione w niniejszej pracy.

Uwagi: Czytając rozprawę doktorską mgr Natalii Janik-Olchawy nie znajduję nieściśłości w założeniach naukowych. Drobiazgowość zaplanowanych eksperymentów oraz ich pracowitość i staranność wykonania wzbudzają uznanie dla jakości każdego etapu wykonanej pracy, a wysoka wartość merytoryczna opisanych badań została już pozytywnie, oceniona przez recenzentów poszczególnych publikacji włączonych do rozprawy.

W tym miejscu mogę jedynie wskazać dwie uwagi. Jedna jest ogólna, druga raczej natury technicznej. Czytając opis, który powinien pełnić rolę przewodnika do załączonych prac oryginalnych, miałam wrażenie, że mgr Natalia Janik-Olchawa wpadła w pułapkę wylczanki. Oczywiście konieczność, niejako wtórnego, ujęcia w języku polskim treści wspomnianych prac, stworzyła pokusę dokładnego odtworzenia opublikowanego przekazu. To jest uwaga o tyle drobna, że wybrana forma prezentowania pracy doktorskiej niejako narzuca konieczność skrótowego raportowania dokonań.

Pomimo stosunkowo krótkiego wprowadzenia Doktorantka nie ustrzegła się drobnych niezręczności językowych. Pozwolę sobie wskazać jeden przykład znajdujący się na str. 9: „...Zdolność NP do przenikania przez dwuwarstwę lipidową oraz barierę krew-mózg, stwarza nowatorskie rozwiązania w zakresie diagnostyki i terapii...” Wydaje mi się, że poprawnie to zdanie powinno brzmieć następująco: „...Zdolność NP do przenikania przez dwuwarstwę lipidową oraz barierę krew-mózg, można wykorzystać proponując nowatorskie rozwiązania w zakresie diagnostyki i terapii...”

Na koniec pozwolę sobie wspomnieć o tym, że zabrakło mi osobnego spisu skrótów stosowanych w pracy i listy wszystkich aktywności naukowych mgr Natalii Janik-Olchawy z opisem wystąpień konferencyjnych i działalności dydaktycznej.

Ocena końcowa: Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Natalii Janik Olchawy pt. „*Badania in vitro toksyczności oraz możliwych efektów terapeutycznych nanocząstek tlenków żelaza*” spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgr Natalii Janik Olchawy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wniosek o wyróżnienie:

Składam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Natalii Janik-Olchawy pt. „*Badania in vitro toksyczności oraz możliwych efektów terapeutycznych nanocząstek tlenków żelaza*”.

Uzasadnienie wniosku:

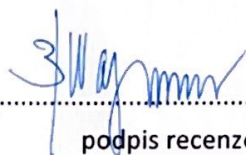
Uważam, że recenzowana praca dotyczy bardzo aktualnej tematyki z obszaru badań międzydziedzinowych o ogromnym znaczeniu dla społeczeństwa. Działania naukowe podjęte przez mgr Natalię Janik-Olchawę podczas realizacji doktoratu, można zaliczyć do badań podstawowych, pokazujących wzorcowy wybór narzędzi instrumentalnych i statystycznych,

obejmujący wszechstronne podejście do jakże trudnego obszaru badań oraz umiejętność skonstruowania spójnego scenariusza analitycznego, w którym znalazły zastosowanie wybrane metody spektralne oraz spektroskopowe.

Na szczególne wyróżnienie zasługuje także ogrom systematycznej pracy, zaplanowanej z wysoką drobiazgowością i dbałością o możliwość dokonania szczegółowej oceny bezpieczeństwa nowych nanomateriałów o potencjalnym zastosowaniu terapeutycznym. Wiedza jaką obecnie dysponujemy o nanotoksyczności jest jeszcze stosunkowo uboga, dlatego tak ważne jest podejmowanie kolejnych badań, dla których praca doktorska mgr Natalii Janik-Olchawy może stanowić wzór.

19 listopada 2022 r.

data sporządzenia recenzji



.....

podpis recenzenta

dr hab. Barbara Wagner, prof. UW