

Warszawa, 02.04.2024

Dr hab. Mateusz Wierzbicki, prof. SGGW,
Katedra Nanobiotechnologii, Instytut Biologii, SGGW
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa
tel. +48 22 593 66 76

**Recenzja osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku Pani dr Marzeny
Szwed w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie
nauki biologiczne**

Pani dr Marzena Szwed ukończyła studia magisterskie na kierunku biologia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego w 2007 r. Pracę magisterską pt. „Oddziaływanie akklarubicyny z komórkami nowotworowymi linii A549” wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Zofii Józwiak w Katedrze Termobiologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Współpracę z prof. dr hab. Zofią Józwiak kontynuowała przy realizacji pracy doktorskiej. W 2012 r. dr Marzena Szwed obroniła pracę doktorską zatytułowaną „Oddziaływanie koniugatu doksorubicyny z transferyną na wybrane linie komórkowe białaczki człowieka”.

Od 2008 r. dr Marzena Szwed była zatrudniona jako asystent asystent w Katedrze Termobiologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Po obronie doktoratu w 2012 roku została zatrudniona na stanowisku adiunkta w tej samej Katedrze, gdzie pracowała do 2016 roku. W latach 2016 – 2019 realizowała staż podoktorski w Instytucie Badań nad rakiem przy uniwersyteckim szpitalu w Oslo w Norwegii. Od 2019 roku pracuje na stanowisku adiunkta w tej samej jednostce, w której była zatrudniona przed odbyciem stażu, która zmieniła nazwę na w Katedrę Biofizyki Medycznej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Szkoła Główna Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie

Instytut Biologii,
Katedra Nanobiotechnologii

Ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
www.sggw.pl

Ocena osiągnięcia naukowego

Prace stanowiące podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego zostały zebrane w osiągnięcie pt. „Nanoterapeutyki w leczeniu raka piersi człowieka - mechanizmy toksyczności nanomateriałów oraz ocena aktywności enkapsulowanych leków”. W skład osiągnięcia wchodzi pięć spójnych tematycznie publikacji, które zostały opublikowane w latach 2019 – 2023 r. Publikacje zostały opublikowane w dobrych czasopismach o IF od 4,925 do 10,43. Łączny IF publikacji wynosi 32,855, natomiast sumaryczna liczba punktów Ministerstwa Edukacji i Nauki wynosi 660. Artykuły w roku opublikowania były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b Ustawy 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.). Wszystkie publikacje wchodzące w skład osiągnięcia są zespołowymi pracami eksperymentalnymi, przy czym dr Marzena Szwed w przypadku trzech prac jest pierwszym autorem, z czego w jednej jej udział jest równoważny w stosunku do drugiego autora. W jednej z prac jest ostatnim autorem, a w innej trzecim autorem. W przypadku dwóch prac dr Marzena Szwed jest autorem korespondencyjnym.

Przedmiotem badań dr Marzeny Szwed była analiza systemów dostarczania leków do komórek raka piersi oraz w mniejszym stopniu komórek raka jelita grubego, nowotworu prostaty, raka szyjki macicy oraz nowotworu wątroby. W jednej z prac analizowano wpływ nośników, przeznaczonych do terapii raka piersi w stosunku na komórki śródbłonna. Nowotwór piersi pomimo postępu medycyny nadal jest jednym z najczęstszych nowotworów występujących w ludzi doprowadzających do zgonu pacjenta. Jest to nowotwór wyróżniający się dużą heterogennością prowadzącą do braku skuteczności konwencjonalnych terapii. Uzasadnia to potrzebę badań nad nowymi strategiami terapeutycznymi, w tym systemami dostarczania leków które potencjalnie mogą zwiększyć skuteczność terapii oraz zmniejszyć toksyczność ogólnoustrojową.

W publikacji Szwed M, Sønstevoold T, Øverbye A, Engedal N, Grallert B, Mørch Ý, Sulheim E, Iversen TG, Skotland T, Sandvig, Torgerse ML. **Small variations in nanoparticle structure dictate differential cellular stress responses and mode of cell death.** Nanotoxicology, 2019, 13(6):761-782, doi: 10.1080/17435390.2019.1576238 analizowano mechanizm wywoływania stresu komórkowego oraz mechanizmu śmierci komórkowej przez nanocząstki polimerowe PACA w zależności od typu wykorzystanego do wytworzenia nanocząstki monomeru, tj. cyjanoakrylanu butylu (PBCA), cyjanoakrylanu etylu, (PEBCA) lub cyjanoakrylanu oktylu (POCA). W badaniach dr Marzena Szwed brała udział w planowaniu koncepcji badań, wykonywała większość badań biologicznych oraz uczestniczyła w analizie wyników i pisaniu pracy. W badaniach zastosowano sześć linii komórkowych (MDA-MB-231, Huh7, SW480, HCT116,

PC3, and HeLa) z czego większość badań prowadzono na linii MDA-MB-231. Nanocząstki w pracy zostały wytworzone przez innych niż dr Marzena Szwed autorów pracy zgodnie z szczegółową metodyką podaną w pracy. Poza podstawowymi analizami fizykochemicznymi z wykorzystaniem analizatora cząstek nie przedstawiono w pracy dodatkowych badań, które potwierdziłyby strukturę oraz czystość otrzymanych nanocząstek co uważam za niedociągnięcie pracy. W badaniach biologicznych, które przeprowadzała Habilitantka wykazano natomiast bardzo interesujące różnice w działaniu nanocząstek – POCA generowały stres retikulum endoplazmatycznego oraz apoptozę, nanocząstki wytworzone z PBCA oraz PEBCA indukowały stres oksydacyjny prowadzący do peroksydacji lipidów zależnej od cysteiny oraz aktywują śmierć komórkową ferroptozę. W pracy zastosowano dobrze dobrane techniki takie jak spektrometria mas, immunobloting, analizy enzymatyczne, fluorescencyjne oraz Real-Time PCR, które udowadniają przedstawione hipotezy. Co więcej atutem pracy jest zastosowanie transfekcji komórek MDA-MB-231 siRNA w celu potwierdzenia otrzymanych wyników badań. Praca w mojej opinii przekonująco wykazuje różnice w odpowiedziach komórek na badane nanocząstki oraz, co zasługuje na uznanie, szczegółowo opisuje mechanizmy cytotoksycznego działania nanocząstek polimerowych PACA.

W pracy Szwed M, Torgersen ML, Kumari RV, Yadava SK, Pust S, Iversen TG, Skotland T, Giri J, Sandvig K. **Biological response, and cytotoxicity induced by lipid nanocapsules.** Journal of Nanobiotechnology, 2020, 18(1):5. doi: 10.1186/s12951-019-0567-y autorzy oznaczali interakcję pustych lipidowych nanokapsuł z komórkami raka piersi. Dr Marzena Szwed uczestniczyła w opracowywaniu koncepcji pracy, wykonywała większość doświadczeń biologicznych oraz uczestniczyła w interpretacji wyników i pisaniu pracy. W pracy wykorzystywano syntetyzowane lipidowe nanokapsuły, które zostały scharakteryzowane jedynie z wykorzystaniem analizatora cząstek. Przeprowadzono testy toksyczności stosując test MTT oraz oznaczany w luminometrze test analizy wewnątrzkomórkowego poziomu ATP (CellTiterGlo), wykazując toksyczność lipidowych nanokapsuł. Niestety w pracy nie jest do końca jasne w jakich stężeniach była analizowana toksyczność lipidowych nanokapsuł, oraz nie przedstawiono na wykresach analizy statystycznej. Interesująca natomiast jest dalsza część publikacji, w której wykorzystano wysokorozdzielczą mikroskopię 3D do wykazania obecności lipidowych nanokapsuł w lizosomach po krótkim czasie od traktowania a w dalszej części pracy potwierdzono obniżenie poziomu endocytozy przez nanokapsuły. Kolejnym istotnym wynikiem w pracy jest wykazanie aktywacji kinazy PERK oraz ufosforylowanej formy czynnika inicjującego transkrypcję eIF2a i czynnika ATF4. Temat został interesująco rozwinięty przez zbadanie mechanizmu fosforylacji eIF2a wykorzystując komórki HAP-1 typu CRISPR/Cas9 *knockout* z pojedynczą inaktywacją genów dla każdej z czterech kinaz, tj. Δ HRI, Δ PERK, Δ GCN2 i Δ PKR

prowadzących do fosforylacji eIF2a i wskazując na udział kinazy HRI. Najważniejszym wynikiem pracy było wykazanie różnic w działaniu nanokapsuł na różne linie komórkowe raka piersi oraz scharakteryzowanie stresu zależnego od retikulum endoplazmatycznego.

W publikacji Valsalakumari R, Yadava SK, Szwed M, Pandaya AD, Mælandsmo G M, Torgersen ML, Iversen TG, Skotland T, Sandvig K, Giri J. **Mechanism of cellular uptake and cytotoxicity of paclitaxel loaded lipid nanocapsules in breast cancer cells**. International Journal of Pharmaceutics, 2021,15: 597, 120217, doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120217 autorzy sprawdzili skuteczność dostarczania paklitakselu w lipidowych nanokapsułkach. Dr Marzena Szwed uczestniczyła w doświadczeniach dotyczących analizy fizykochemicznej nanocząstek, oceny żywotności i apoptozy komórek oraz endocytozy nanocząstek lipidowych. Habilitantka uczestniczyła w współtworzeniu koncepcji pracy, interpretacji wyników oraz pisaniu pracy. W pracy wykorzystano lipidowe nanokapsuły o średnicy 50, 90 oraz 120 nm wypełnione paklitakselem lub znacznikiem fluorescencyjnym. Przeprowadzono panel badań potwierdzających prawidłowo przygotowane nośniki leków. W przeprowadzonych badaniach stosując trzy linie raka piersi wykazano dostarczanie leku w nośniku do komórek, obniżenie proliferacji komórek oraz indukcję apoptozy. W pracy analizowano biodystrybucję nanokapsuł wypełnionych znacznikiem fluorescencyjnym po dożylniej iniekcji myszom. Dodatkowo w pracy analizowano mechanizmy endocytozy nanokapsuł oraz wykazano, że internalizacja lipidowych nanokapsuł jest konieczna do uwolnienia się z nich leku, co uważam za najważniejszy wynik w pracy wśród badań wykonanych przez Habilitantkę. Korzystając z dobrze dobranego zestawu inhibitorów endocytozy dr Marzena Szwed wykazała, że za transport nanokapsuł odpowiedzialna jest makropinocytoza i szlak Cdc42/GRAF1.

W pracy Szwed M, Michlewska S, Kania K, Szczęch M, Marczak A, Szczepanowicz K, **New SDS- based polyelectrolyte multicore nanocarriers for paclitaxel delivery – synthesis, characterization, and activity against breast cancer cells**. Cells, 2023, 12, 2052 doi: doi.org/10.3390/cells12162052 charakteryzowano syntezę oraz aktywność multirdzeniowych nanonośniki SDS/PLL I SDS/PLL/PGA, służących jako system dostarczania paklitakselu, w stosunku do komórek nowotworu piersi. W pracy zaprezentowano wyniki projektu dr Marzena Szwed NCN Miniatura. Habilitantka była odpowiedzialna za zaplanowanie i wykonanie większości doświadczeń biologicznych, opracowanie wyników i przygotowanie publikacji. Badania przeprowadzono na dwóch liniach komórkowych nowotworu piersi oraz linii komórek śródbłónka. W pracy szczegółowo opisano proces syntezy nanokapsuł opartych na surfaktancie dodecylosiarczanu sodu (SDS) i polielektrolicie (PLL) stabilizowanym przez kwas poli - L- glutaminowy (PGA) przeprowadzony przez zespół przez zespół dr hab. Krzysztofa Szczepanowicza. Dr Marzena Szwed przeprowadziła badania dotyczące

toksyczności pustych oraz zawierających paklitaksel nanonośników, wykazując stosując standardowe testy brak toksyczności SDS/PLL i SDS/PLL/PGA w badanych stężeniach w stosunku do trzech badanych linii komórkowych. Następnie wykazano, że paklitaksel w stosowanych nośnikach zachowuje podobną toksyczność do niezwiązanego leku oraz indukuje apoptozę. Badania dotyczące analizy indukcji apoptozy w komórkach uzupełniono o dodatkowe potwierdzenie obserwowanego efektu stosując z inhibitor kaspazy 3 – zVAD-FMK. Dr Marzena Szwed poszerzyła podstawowy panel badań cytotoxyczności o analizę potencjału błonowego mitochondriów.

Praca Wigner P, Zielinski K, Michlewska S, Danielska P, Marczak A, Ricci Jr E, Santos-Oliveira R, Szwed M. **Disturbance of cellular homeostasis as a molecular risk evaluation of human endothelial cells exposed to nanoparticles**. Scientific Reports, 2021, 11(1), 3849, doi: 10.1038/s41598-021-83291-0 dotyczyła analizy wpływu czterech typów nanocząstek organicznych na nieśmiertelne komórki śródbłoka (HUVEC-ST). Pani Marzena Szwed koordynowała i wykonała większość biologicznej części pracy, zaplanowała koncepcję pracy, interpretowała wyniki oraz napisała pracę. Nanomateriały zostały wytworzone przez autorów pracy. Szczegółowa analiza fizykochemiczna nanomateriałów została przedstawiona w pracach, których odniesienia podano w metodyce badań. Habilitantka wykazała, zróżnicowane typy nanocząstek organicznych mające służyć w diagnostyce i terapii raka piersi wykazują zróżnicowaną toksyczność w stosunku do komórek śródbłoka. Podstawowe badania toksyczności rozszerzono o analizę genotoksyczności, apoptozy oraz stresu mitochondrialnego. W sposób przekonujący wykazała, że nanocząstki będące polimerami kwasu etylenodiamino-N,N,N',N' tetrametylenofosfonowego (EDTMP) powlekane kwasem polimlekowym (PLA) (PLA/EDTMP) wykazują najniższą toksyczność w stosunku do komórek śródbłoka. Uważam, że ciekawą kontynuacją tych badań byłoby przeprowadzenie podobnych analizy toksyczności nanocząstek w warunkach przepływu, które mogą istotnie zmienić obserwowane wyniki.

Przedstawione prace tworzą spójną całość w odniesieniu do badań toksyczności nanocząstek organicznych przeznaczonych do leczenia i diagnostyki raka piersi. W pracach wyraźny jest wiodący wkład dr Marzeny Szwed w powstanie części biologicznych prac. Cykl publikacji stanowiący przedstawione osiągnięcie dostarcza nowych, bardzo ciekawych informacji dotyczących zastosowania nanomateriałów w potencjalnej terapii. Uważam, że dużą wartością większości publikacji wchodzących w skład osiągnięcia jest wnikliwa analiza mechanizmów cytotoxyczności, co w przypadku nanocząstek nie jest prostym zadaniem.

Ocena działalności naukowej

Dorobek publikacyjny Habilitantki poza pracami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego to 38 prac, z czego 31 prac posiada IF. W przypadku 15 prac nie licząc prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego dr Marzena Szwed jest pierwszym autorem. Tematyka prac dotyczy analizy działania antynowotworowego koniugatu dokorbicyny z transferną, toksyczności leków przeciwnowotworowych, interakcji kationowych dendrymerów, nanocząstek polimerowych oraz nanocząstek metalicznych z komórkami nowotworowymi i nienowotworowymi co wskazuje na bardzo dużą spójność tematyczną całego dorobku publikacyjnego. Wyniki badań były regularnie prezentowane przez Habilitantkę na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych (11 wystąpień krajowych i 16 międzynarodowych). Dodatkowo Habilitantka jest współautorką jednego patentu krajowego oraz zgłoszenia patentowego w tematyce prowadzonych badań naukowych. Uważam, że dr Marzena Szwed posiada dorobek publikacyjny świadczący o wysokiej aktywności naukowej co pokazują również wskaźniki bibliometryczne (Indeks Hirscha - 12, Liczba cytowani bez autocytowań - 353, sumaryczny IF -122,249).

W działalności naukowej dr Marzeny Szwed widoczny jest wysoki stopień współpracy z innymi jednostkami badawczymi, co wynika między innymi z interdyscyplinarnego charakteru prowadzonych prac badawczych. Dotyczy to zarówno okresu długoterminowego stażu w Olso Rhadium Hospital (2016-2019) jak i działalności przed i po okresie stażu. W zakresie współpracy międzynarodowej dr Marzeny Szwed współpracowała z jednostkami naukowymi i z Francji, Brazylii, Norwegii oraz w okresie stażu poza samym Olso Rhadium Hospital dwóch jednostek naukowych z Norwegii, Indii i Belgii. Habilitantka planuje realizację 6 tygodniowego pobytu naukowego w Universitätsklinikum Erlangen w Niemczech. Badania habilitantki były prowadzone w ramach 9 projektów krajowych, gdzie była wykonawcą w 5 projektach, kierownikiem w projekcie NCN Miniatura i 3 projektach wewnętrznych UŁ oraz wykonawcą lub stypendystą w 3 projektach międzynarodowych.

W mojej ocenie dorobek dr Marzeny Szwed świadczy o aktywnej działalności naukowej, która wyróżnia się przede wszystkim bardzo dużą spójnością prowadzonych działań w kierunku prac nad systemami dostarczania leków co widoczne jest zarówno w zakresie aktywności publikacyjnej, działalności w ramach współprac z innymi jednostkami czy wdrażanych metod badawczych.

Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzującej naukę

Dr Marzena Szwed wykazywała bardzo dużą aktywność dydaktyczną. W latach 2008-2016 i od 2019 r. prowadziła ćwiczenia dla studentów I i II stopnia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego z 14 przedmiotów na kierunkach biologia, ochrona środowiska, biotechnologia, mikrobiologia.

Habilitantka prowadziła seminarium licencjackie dla studentów kierunku biotechnologia. Dodatkowo przygotowała autorski przedmiot dla studentów angielskojęzycznych pt. „Mamallian cell culture” oraz uczestniczyła w opracowywaniu programów realizowanych zajęć dydaktycznych. Habilitantka poza działalnością wliczaną do podstawowego pensum pracownika naukowo-dydaktycznego wykazywała znaczną aktywność związaną z rozwojem naukowym młodych badaczy. Należy wyróżnić opiekę naukową nad dwoma stażystami. Ponadto była promotorem 3 prac magisterskich oraz 4 prac licencjackich. Uczestniczyła w działalności Koła Naukowego Młodych Biofizyków co zwieńczyła publikacją naukową w dobrym czasopiśmie oraz wystąpieniami na konferencjach naukowych.

W zakresie działalności organizacyjnej w okresie pracy w Uniwersytecie Łódzkim dr Marzena Szwed również wykazała się bardzo dużą aktywnością. W latach 2014 - 2016 oraz 2019 - 2023 była członkiem Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UŁ. Była również członkiem Komisji Rekrutacyjnej dla kierunków: biologia, ochrona środowiska i biotechnologia w latach akademickich 2009/2010 i 2013/2014. Wykazywała się także aktywnością w zakresie działalności podstawowej jednostki zatrudnienia w zakresie bieżącej opieki nad aparaturą badawczą oraz działalnością laboratoriów.

Habilitantka brała udział w działalnościach, których celem była popularyzacja nauki. Przeprowadzała pokazy w ramach Nocy Biologów, zajęcia dla uczniów liceów ogólnokształcących oraz wykłady i pokazy w ramach innych wydarzeń, między innymi Nocy Biologów.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Stwierdzam, że zrealizowany przez dr Marzenę Szwed cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych pt. „Nanoterapeutyki w leczeniu raka piersi człowieka- mechanizmy toksyczności nanomateriałów oraz ocena aktywności enkapsulowanych leków” stanowi znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne. Oceniając całokształt działalności stwierdzam, że dr Marzena Szwed wykazuje się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni oraz instytucji naukowej, także zagranicznej przez co spełnia wymogi stawiane do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w Ustawie 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 związku z tym wnioskuję o nadanie dr Marzenie Szwed stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

