

Warszawa 1 Grudnia, 2022r.

Prof. dr hab. Przemysław Dorożyński
Katedra Technologii Leków
i Biotechnologii Farmaceutycznej
Warszawski Uniwersytet Medyczny



**Ocena osiągnięcia naukowego pt.
„Niesferyczne nanocząstki złota w nowych metodach leczenia zakażeń i nowotworów”
wraz z oceną dorobku naukowego oraz oceną działalności dydaktycznej, organizacyjnej
i popularyzatorskiej dr n. med. Eweliny Pikel adiunkta w Zakładzie Mikrobiologii Lekarskiej
i Inżynierii Nanobiomedycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

Pani dr n. med. Ewelina Pikel jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (UMB), który ukończyła w 2012 roku, broniąc z wynikiem bardzo dobrym pracę magisterską pt. „Ocena przeciwnowotworowego działania nowych analogów sildenafilu na komórki raka piersi MCF-7”, realizowaną pod kierunkiem prof. dr hab. Anny Bielawskiej. Swoje dalsze zainteresowania badawcze pani dr Ewelina Pikel rozwijała w ramach studiów doktoranckich, przygotowując rozprawę doktorską pt. „Aktywność przeciwnowotworowa nanocząstek magnetycznych sfunkcjonalizowanych analogami kationowych peptydów przeciwbakteryjnych”. Promotorem pracy był prof. dr hab. n. med. Robert Bucki z Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Po obronie z wyróżnieniem pracy doktorskiej w 2018 roku, pani dr Ewelina Pikel podjęła pracę na stanowisku adiunkta, pracownika badawczego w jednostkach Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku a następnie w Samodzielnej Pracowni Techniki Mikrobiologicznych i Nanobiomedycznych, w Zakładzie Mikrobiologii Lekarskiej i Nanobiomedycznej oraz w Samodzielnej Pracowni Nanomedycyny.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe pani dr Eweliny Pikel pt. „Niesferyczne nanocząstki złota w nowych metodach leczenia zakażeń i nowotworów” stanowi cykl pięciu powiązanych tematycznie publikacji o sumarycznym współczynniku oddziaływania (*Impact Factor*) równym 26,729 i łącznej punktacji MEiN wynoszącej 620 punktów, zgodnie z punktacją z wykazu czasopism z 2021 roku. Przedstawiony do

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'E. Pikel'.

oceny cykl publikacji naukowych odpowiada wymaganiom art. 219 ust. 1, pkt 2 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Prace wchodzące w skład cyklu przynależą do dziedziny nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne. Czasopisma, w których opublikowano prace: *Nanomedicine*, *Scientific Reports*, *Infections and Drug Resistance*, *International Journal of Nanomedicine* oraz *Cancers* są renomowanymi periodykami, zgodnie z informacją SCImago Journal Rank (SJR) i wszystkie lokują się w pierwszym kwartyle czasopism z dziedziny. Wszystkie prace wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego zostały opublikowane w latach 2020-2022, a ich wartość naukową potwierdza fakt, że w tak krótkim okresie były cytowane ponad sześćdziesięciokrotnie. We wszystkich pracach pani dr Ewelina Pikel jest pierwszym autorem, a jej deklarowany udział w przygotowaniu prac jest znaczący, mieszcząc się w zakresie 65%-75%. Analiza oświadczeń habilitantki oraz współautorów wskazują, że uczestniczyła ona aktywnie we wszystkich etapach prac badawczych i dotyczących opracowania manuskryptu. Habilitantka opracowywała koncepcje badawcze, prowadziła nadzór nad pracami zespołów, wykonywała analizy mikrobiologiczne, nadzorowała merytorycznie prowadzone badania, prowadziła analizy statystyczne, interpretowała wyniki oraz przygotowywała manuskrypty.

Na etapie realizacji pracy doktorskiej pani dr Ewelina Pikel skryształizowała swoje zainteresowania naukowe, skupiając się na wykorzystaniu struktur nanometrycznych jako potencjalnych układów o znaczeniu terapeutycznym. Należy podkreślić, że w przypadku nanomateriałów, parametry strukturalne wpływają na ich właściwości fizykochemiczne. Co sprawia, że nie można wprost przenosić właściwości materiałów obserwowanych zarówno ze skali mezo/mikro jak i skali molekularnej na właściwości układów nanocząsteczkowych. Habilitantka konsekwentnie realizuje badania w tej dziedzinie, prezentując ich wyniki w kolejnych publikacjach naukowych.

W publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, habilitantka wybrała, jako główny przedmiot swoich zainteresowań badawczych, nanocząstki złota o niesferycznych kształtach w tym przede wszystkim nanofistaszki (AuP NPs), nanopatyczki (AuR NPs) oraz nanogwiazdki (AuS NPs) jako potencjalne nośniki substancji przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych i przeciwnowotworowych. Jako materiały odniesienia wykorzystane zostały nanocząstki sferyczne (AuSph NPs), nanocząstki o powierzchni funkcjonalizowanej za pomocą bromku cetylotriamonowego (AuSph (CTAB) NPs) oraz nanocząstki porowate uzyskiwane w temperaturze 70°C (AuSph (70C) NPs). Przegląd celów szczegółowych stawianych przez habilitantkę w kolejnych pracach należących do cyklu pokazuje konsekwentnie budowaną strategię badawczą, prowadzącą od zagadnień ogólnych do coraz bardziej szczegółowych. Zwraca także uwagę pewna elastyczność podejścia badawczego, przejawiająca się w poszerzaniu zakresu prowadzonych prac wraz z pozyskiwaniem wiedzy o właściwościach badanych materiałów. Te dwa elementy wskazują na dojrzałość i kreatywność badawczą.

W początkowym etapie swoich prac habilitantka stawia sobie cel ogólny, który zostaje zawarty w pracy oznaczonej symbolem **H1** zatytułowanej „*Rod-shaped gold nanoparticles exert potent candidacidal activity and decrease the adhesion of fungal cells*” (Nanomed. 2020). Dotyczy on oceny aktywności przeciwgrzybiczej AuR NPs wobec grzybów drożdżopodobnych i pleśniowych wraz z analizą mechanizmu działania nanopatyczków wobec form planktonicznych oraz biofilmu grzybowego. Zespół badawczy habilitantki uzyskał bardzo interesujące wyniki wskazujące, że geometria nanocząstek wpływa na charakter interakcji ze ścianą lub błoną komórkową grzybów wywierając efekt przeciwgrzybiczy.



Uzyskane wyniki wskazujące istotny efekt hamujący nanopatyczków złota na formowanie biofilmu skłoniły habilitantkę do postawienia dalszych pytań. Głównym celem kolejnej pracy oznaczonej symbolem **H2**, noszącej tytuł „*Varied-shaped gold nanoparticles with nanogram killing efficiency as potential antimicrobial surface coatings for the medical devices*” (Sci. Rep. 2021) było określenie porównawcze aktywności przeciwrzybiczej nanocząstek o różnych kształtach. Prace badawcze poszerzono o badania aktywności nanopatyczków i nanofistaszków przeciw lekoopornym bakteriom *E. coli* izolowanym od pacjentów z zakażeniem układu moczowego. Podkreślić należy, że w pracy pojawia się także wątek aplikacyjny, co jasno wskazuje na praktyczne podejście do wyników uzyskiwanych podczas badań. Habilitantka podejmuje bowiem ocenę hemokapatybilności oraz bada możliwość wykorzystania nanopatyczków złota jako materiału do powlekania cewników urologicznych. Wyniki uzyskane podczas badań znacząco poszerzają wiedzę dotyczącą mechanizmów działania przeciwdrobnoustrojowego nanomateriałów o niesferycznej geometrii wskazując także iż ich aktywność jest niespecyficzna gatunkowo, co ma szczególne znaczenie w przypadku infekcji mieszanych, w których uczestniczy kilka różnych gatunków mikroorganizmów. Stwarza to bardzo obiecującą perspektywę dla przyszłych zastosowań, gdyż pozwala na terapię zakażeń, w których uczestniczą organizmy o różnym stopniu lekooporności. W przypadku nanocząstek metalicznych bardzo ważny aspekt aplikacyjny tego typu materiałów stanowi dawka zapewniająca aktywność, gdyż może ona powodować niepożądane efekty toksykologiczne. W przypadku AuR NPs, AuP NPs i AuS NPs stężenia niezbędne zahamowania wzrostu mikroorganizmów (MIC - Minimal Inhibitory Concentration) mieściły się w zakresie 0,08 – 0,625 ng/ml, natomiast stężenia bakterio- i grzybobójcze (MBC/MFC – minimal bactericidal/fungicidal concentration) nie przekraczały 1,25 ng/ml, co znacząco przewyższa aktywność niektórych substancji leczniczych o działaniu przeciwrzybiczym. Dla porównania wartości MIC wybranych substancji leczniczych z grupy konazoli są aż o rząd wielkości większe i mieszczą się w zakresie mikrogramów/ml.

Kierując się w dalszym ciągu wątkiem aplikacyjnym, w pracy **H3** „*N-Acetyl-Cysteine Increases Activity of Peanut-Shaped Gold Nanoparticles Against Biofilms Formed by Clinical Strains of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Sputum of Cystic Fibrosis Patients*” (Inf. Drug Res. 2022), habilitantka podejmuje tematykę analizy wpływu środowiska zewnątrzkomórkowego macierzy biofilmu na aktywność nanocząstek złota względem szczepów *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych od pacjentów z mukowiscydozą. To zadanie pozwoliło na poszerzenie wiedzy dotyczącej interakcji mikroorganizmów z nanocząstkami w środowisku o podwyższonej lepkości, a więc obniżonych parametrach transportu masy w obrębie układu. Matryca hydrożelowa, jaką niewątpliwie jest wydzielina śluzowa drzewa oskrzelowego lub lepka ciecz o charakterze koloidu, jaką jest wydzielina ropna lub surowica, stanowią przeszkodę dla skutecznego dostarczenia materiału, który, aby uzyskać skuteczność, musi wejść w bezpośredni kontakt ze ścianą komórkową mikroorganizmu. Prace wykazały, że krytyczne parametry dla transportu nanocząstek w tego typu środowisku, to ich wielkość i kształt. Obserwacje te pozwoliły habilitantce postawić tezę o konieczności uwzględniania warunków aplikacji nanomateriału przy doborze jego parametrów, co wiąże się także z doбором parametrów syntezy pozwalającej osiągnąć jego pożądaną skuteczność. Ciekawą obserwacją uzyskaną podczas badań była destabilizacja matryc hydrożelowych i ich upłynnienie pod wpływem AuP NPs, co dawało efekt jakościowo podobny do zastosowania n-acetylocysteiny.

Podczas analizy cyklu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego szczególną uwagę zwraca ich wielowątkowość. Dobrym przykładem jest publikacja **H4** zatytułowana „*ROS-mediated apoptosis and autophagy in ovarian cancer cells treated with peanut-shaped gold nanoparticles*” (Int. J. Nanomed. 2021). Celem pracy było ustalenie aktywności przeciwnowotworowej nanofistaszków

złota względem komórek raka jajnika SKOV-3 wraz z analizą mechanizmu ich działania w warunkach in vitro. Badania wykazały, że kształt i dodatni ładunek powierzchniowy nanofistaszków były czynnikami zaburzającymi integralność błon komórkowych i mitochondrialnych, i powodującymi apoptozę poprzez aktywację kaspazo-zależnego mechanizmu śmierci komórki. Nowatorskie podejście habilitantki do prac badawczych podkreśla fakt, że publikacja **H4** była pierwszym doniesieniem literaturowym wskazującym możliwość wykorzystania nanofistaszków złota w terapii chorób nowotworowych.

Omawiane dotychczas prace koncentrowały się na aktywności samych nanonocząstek złota, jednak w przypadku układów tego typu naturalnym kierunkiem rozwoju badań jest badanie wykorzystania nanomateriału jako nośnika substancji aktywnych biologicznie immobilizowanych na jego powierzchni. Do dalszych prac badawczych pani dr Pikel wybrała cerageninę CSA-131, jako substancję czynną wykazującą działanie przeciwnowotworowe. W pracy **H5** zatytułowanej „*Peanut-shaped gold nanoparticles with shells of ceragenin csa-131 display the ability to inhibit ovarian cancer growth in vitro and in a tumor xenograft model*” (Cancers 2021) habilitantka podjęła się zadania oceny potencjału zmniejszania odpowiedzi zapalnej cerageniny CSA-131 immobilizowanej na powierzchni nanofistaszków złota (AuP@CSA-131) w przebiegu choroby nowotworowej, w warunkach in vitro i in vivo. Drugim istotnym elementem tej pracy była analiza biodystrybucji używanego nanomateriału. Badania na komórkowym i zwierzęcym modelu nowotworu jajnika pozwoliły na uzyskanie wielce obiecujących wyników, które wskazują, że pomiędzy cerageniną CSA-131 a AuP NPs występuje synergizm działania cytotoksycznego. Daje to szansę na wykorzystanie CSA-131 pomimo jej relatywnie wąskiego okna terapeutycznego i wysokiego potencjału hemolitycznego, ograniczającego jej zastosowanie.

Oceniając całościowo osiągnięcie habilitacyjne pani dr Eweliny Pikel z przyjemnością stwierdzam, że przedstawione badania cechują się wysokim poziomem merytorycznym oraz potencjałem nowatorskim i poznawczym. Przeprowadzone prace lokujące się na pograniczu fizykochemii nanomateriałów, biologii i medycyny, mają znaczny potencjał aplikacyjny i mogą stanowić podstawę do rozwoju nowych strategii terapeutycznych zarówno w obszarze chorób infekcyjnych, jak i nowotworowych. Zaprezentowane wyniki posiadają odpowiedni poziom nowości naukowej i wnoszą znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauk medycznych.

Na szczególne podkreślenie zasługuje interdyscyplinarny charakter prezentowanych prac oraz ich spójność metodyczna. Potwierdza to wysokie kwalifikacje habilitantki w zakresie organizacji prac naukowych międzydziedzinowych zespołów badawczych. Dobór metod analitycznych wskazuje na duży stopień swobody badawczej, który umożliwia odpowiednie planowanie badań i interpretację wyników, aby uzyskać odpowiedź na postawione pytania.

Ocena całościowa aktywności naukowej habilitantki

Całkowity dorobek naukowy habilitantki jest pokaźny, obejmuje 52 artykuły naukowe, z czego 32 artykuły stanowią prace oryginalne, natomiast 16 to prace przeglądowe. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) opublikowanych prac wynosi 218,485. Zgodnie z przedstawioną analizą bibliometryczną datowaną na dzień 11 marca 2022 r. liczba cytowań prac habilitantki wynosiła 806 (616 bez autocytowań) a ich indeks Hirsha był równy 17. Przegląd dorobku naukowego habilitantki wskazuje jej dynamiczny rozwój po doktoracie, który obroniła w 2018 r. W tak krótkim czasie była współautorką 29 publikacji o łącznym kumulatywnym IF 149,278. Habilitantka jest także współautorką jednego zgłoszenia patentowego.

Przegląd dorobku publikacyjnego pani dr Eweliny Piktel wskazuje, że prace zaprezentowane jako osiągnięcie habilitacyjne, stanowią jedynie wycinek znacznie szerszych zainteresowań badawczych habilitantki. Zakres jej prac badawczych obejmował poszukiwanie nowych substancji, które mogą być wykorzystane do leczenia zakażeń bakteryjnych, grzybiczych, sepsy i chorób nowotworowych, ocenie ich aktywności biologicznej i analizie interakcji z czynnikami występującymi w stanie zapalnym oraz analizie mechanizmów i ścieżek sygnalizacyjnych prowadzących do apoptozy. Ważnym aspektem dojrzałej działalności naukowej jest umiejętność pozyskania środków, budowania i zarządzania zespołami badawczymi. Habilitantka wykazuje w tym przypadku ponadprzeciętne kompetencje przejawiające się w zaangażowaniu w realizację 37 projektów badawczych w tym pięciu ze środków NCN i kierowanie 9 projektami. Pragnę podkreślić umiejętności habilitantki w zakresie wykorzystania metod analitycznych. W prezentowanych pracach można znaleźć badania na liniach komórkowych, badania na zwierzętach, wykorzystanie techniki western blot, analizy mikrobiologiczne, techniki mikroskopowe (mikroskopii fluorescencyjnej, sił atomowych, konfokalnej), cytometrii przepływowej, technik kolorymetrycznych i fluorymetrycznych itd. Tak szeroko zakrojone badania wymagają nawiązywania i podtrzymywania licznych współprac naukowych. Habilitantka współpracuje z licznymi ośrodkami naukowymi zarówno w Polsce jak i za granicą. Do najważniejszych należy zaliczyć: Instytut Fizyki Jądrowej PAN w Krakowie, Birmingham Young University, USA, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Świętokrzyskie Centrum Onkologii w Kielcach, Politechnikę Białostocką, University of Pennsylvania, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, University of Rostock.

Za swoje osiągnięcia naukowe habilitantka była wielokrotnie nagradzana m.in. nagrodami indywidualnymi I stopnia Rektora UMB, wcześniej stypendiami dla najlepszych doktorantów. Jest także laureatką stypendium naukowego VI edycji Fundacji Polpharmy za założenia rozprawy doktorskiej i dorobek naukowy.

Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę

W ramach działalności dydaktycznej habilitantka prowadziła zajęcia z przedmiotów Biologia z genetyką, Biologia z epidemiologią oraz Parazytologia. Od 2020 roku jest promotorem pomocniczym słuchacza Szkoły Doktorskiej UMB.

Wielokrotnie uczestniczyła w przygotowaniu wniosków o finansowanie badań naukowych, realizowała także zadania organizacyjno-infrastrukturalne polegające na tworzeniu Laboratorium Hodowli Komórkowej przy Samodzielnej Pracowni Technik Mikrobiologicznych i Nanobiomedycznych UMB oraz podobnego laboratorium w Zakładzie Mikrobiologii i Immunologii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach. W 2020 roku pani dr Piktel podjęła się zadania organizacji Samodzielnej Pracowni Nanomedycyny w UMB.

Habilitantka chętnie podejmuje działalność edytorską, trzykrotnie pełniąc funkcję Guest Editor wydań specjalnych w czasopismach z Listy Filadelfijskiej. Od 2017 pełniła także wielokrotnie (26) funkcję recenzenta publikacji naukowych w czasopismach z listy JCR.

Wniosek końcowy

Przedłożone do oceny osiągnięcie naukowe dr n. med. Eweliny Piktel, całokształt jej dorobku naukowego, szeroki zakres badań realizowanych w ramach rozlicznych współprac naukowych z wyróżniającymi się ośrodkami naukowymi w kraju i za granicą oraz pozostałe osiągnięcia w pełni spełniają wymogi formalne i merytoryczne artykułu 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o

szkolnictwie Wyższym i Nauce stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. W związku z tym z prawdziwą przyjemnością wnioskuję do wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie dr n. med. Eweliny Piktel do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Warszawa 1 Grudnia, 2022 roku.

Prof. dr hab. Przemysław Dorożyński
Katedra Technologii Leku i Biotechnologii
Farmaceutycznej Warszawskiego Uniwersytetu
Medycznego

