

Prof. dr hab. inż. Stanisław Wołowicz  
Kolegium Nauk Medycznych  
Uniwersytet w Rzeszowie

**RECENZJA DOROBKU NAUKOWEGO**  
**DO HABILITACJI Dr Sylwii MICHLEWSKIEJ**

[Pracownia Obrazowania Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik Biologicznych  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego]

## **1 WSTĘP**

Biologia komórek jest obecnie centralnym polem działalności badawczej interdyscyplinarnych zespołów naukowych. Szczególnym wyzwaniem grup badawczych jest doskonalenie metod hemoterapeutycznych skierowanych przeciw nowotworom. Znanych jest obecnie wiele związków chemicznych aktywnych jako leki antynowotworowe a część z nich jest dopuszczona do hemoterapii przeciwko różnorodnym typom nowotworów. Zdecydowana większość z tych leków to małowcząsteczkowe związki, zaburzające cykl komórkowy komórek nowotworowych. Większość z nich jednak zaburza również cykl życiowy komórek normalnych, stąd toksyczność systemowa tych leków stanowi uciążliwość hemoterapii antynowotworowej. Jest to istotnym ograniczeniem użycia tych leków, które są aktywne. Innym ograniczeniem aktywnych leków jest ich niewielka rozpuszczalność w wodzie, która wymusza użycie ich w nadmiarowych dawkach w terapii.

W celu obniżenia dawek leków antynowotworowych o wysokiej cytotoksyczności rozwinęła się koncepcja systemów dostarczania leków (DDS), w których lek o niskim ciężarze cząsteczkowym jest składnikiem układu makrocząsteczkowego, z którego lek uwalniany jest powoli lub nawet tylko w komórce docelowej (nowotworowej). Pożądaną cechą nośnika leku jest dodatni ładunek, co skutkuje dominującym wiązaniem takiego DDS do ujemnie naładowanych powierzchni błon komórkowych. Z założenia zwiększa to prawdopodobieństwo uwolnienia leku z DDS w mikrootoczeniu tkanki nowotworowej, lub nawet wniknięcie do cytoplazmy wedle różnych mechanizmów, w zależności od rozmiaru kompleksu DDS z lekiem.

Standardowymi składnikami takich DDS są liniowe i dendrytyczne polialkiloiminy PEI i PPI oraz inne dendrymery, w tym najczęściej testowane dendrymery poliamidoaminowe PAMAM. Te makrocząsteczki mogą być nośnikami nie tylko leków o charakterze hydrofobowym, lecz także polinukleotydów, w tym siRNA. Dodatkową cechą tych monodispersyjnych makrocząsteczek jest możliwość modyfikacji ich struktury poprzez dołączanie dodatkowych cząsteczek (ligandów), które kierują cały kompleks DDS-lek do komórek docelowych. Zastosowanie ligandów mających powinowactwo do receptorów błon komórkowych, których nadekspresja w komórkach nowotworowych jest znana, stanowi jedną z dróg selektywności powinowactwa takich DDS do komórek nowotworowych.

Postęp w badaniach nad DDS służących potencjalnej terapii antynowotworowej jest realizowany w wielu ośrodkach badawczych, z których ośrodek Łódzki i badacze wywodzący się z niego, wyróżnia się wysoką aktywnością. Habilitantka wywodzi się z tego środowiska naukowego i wniosła wkład w jego rozwój, co ma swoje odzwierciedlenie w znacznym dorobku naukowym habilitantki.

Publikacje habilitantki są tematycznie bardzo rozległe. Ich cechą charakterystyczną jest udział wielu autorów, reprezentujących różne dyscypliny i specjalności naukowe. Autorami publikacji są

chemicy, biolodzy wyspecjalizowani w hodowli komórek i biofizycy, którzy w sposób wyspecjalizowany monitorują zarówno obiekty chemiczne jak i ich oddziaływanie z materiałem biologicznym. Dominującym badaczem w zakresie metod biofizycznych zastosowanych w serii prac przedstawionych jako dorobek naukowy habilitacji jest dr Sylwia Michlewska.

## **2 KONCEPT PRACY BADAWCZEJ DR SYLWII MICHLEWSKIEJ**

Dorobek naukowy w ramach tematu habilitacyjnego dr Michlewskiej, „Karbokrzemowe dendryмеры z rutenem i miedzią jako nośniki leków i proapoptotycznego siRNA do komórek nowotworowych” został zainicjowany w 2017 roku. Trzy pierwsze publikacje były podstawą doktoratu dr Michlewskiej pod tytułem „Przeciwnowotworowe właściwości dendrymerów zawierających ruten”. W następnych latach koncept zastosowania dendrymerów karbasilanowych zakończonych skoordynowanymi jonami metali w otoczeniu aldiminopirydynowym i dodatkowo p-cymenowym (w przypadku rutenu(II)) rozwinął się w kierunku zastosowania tych dendrymerów jako związków o aktywności antynowotworowej a także ich kombinacji z innymi lekami antynowotworowymi i jako transfekującego wektora dla siRNA. Spośród 12 publikacji 6 zostało wybranych przez habilitantkę i zadeklarowanych jako dorobek z dominującym wkładem własnym, co potwierdzili współautorzy tych publikacji.

## **3 WARSZTAT BADAWCZY DR SYLWII MICHLEWSKIEJ**

O ile chemiczna część pracy badawczej opisanej w przedstawionym dorobku została wykonana przez współpracowników z innego ośrodka badawczego (Universidad de Alcalá) pod kierunkiem prof. FJ de la Mata, o tyle eksperymenty pozostałe zostały przeprowadzone przez habilitantkę. Dr Michlewska charakteryzowała nanocząstki dendrymerów oraz ich połączeń z lekami i siRNA metodami DLS, w celu określenia potencjału zeta i średnicy hydrodynamicznej, TEM z celu określenia wielkości nanocząstek i ich asocjatów w stanie stałym, stosowała metody fluorescencyjne w celu określenia anizotropii fluorescencji nanocząstek oddziałujących z izolowanymi błonami erytrocytów.

Dr Michlewska prowadziła także badania przeżywalności komórek ssaczy linii normalnych i nowotworowych w celu określenia cytotoksyczności dendrymerów i ich połączeń z lekami, wnikania dendrymerów do komórek metodą mikroskopii konfokalnej i cytometrii przepływowej, testy haemotoksyczności, analizę elektroforetyczną połączeń dendrymer-siRNA oraz ich monitorowanie metodą spektroskopii CD.

W ramach współpracy dane eksperymentalne zostały poparte metodami symulacji komputerowej w przypadku oddziaływań rutenowego dendrymeru CRD z lekami DOX, FU i MTX (dr Mały z Uniwersytetu Usti nad Labem). Ponadto dr Michlewska opracowała sposób wytwarzania podwójnych DDS, w których kompleks dendrymer-lek został częściowo umieszczony w liposomach. Ta procedura została opracowana i zoptymalizowana we współpracy z grupą badawczą z Comenius University w Bratysławie.

Dodatkową umiejętnością stanowiącą wyjątkowo użyteczne narzędzie na drodze: lek → testy in vitro → testy in vivo, którą zademonstrowała dr Sylwia Michlewska jest prowadzenie testów na zwierzętach hodowlanych. Praca polegała na hodowli myszy BALB/c, wszczepieniu nowotworu raka piersi, obserwacji działania leków i końcowe analizy dystrybucji rutenu w zwierzęciu oraz masy guza.

Reasumując, dr Sylwia Michlewska dysponuje kompletnym warsztatem badawczym dzięki swojemu doświadczeniu w trakcie długiej i wielowątkowej pracy w ramach dorobku zgłoszonego do habilitacji oraz innych prac badawczych we współpracy z grupami badaczy z zakresu medycyny. Uważam, że doskonałe przygotowanie warsztatowe habilitantki będące rezultatem długotrwałej pracy na etacie naukowo-technicznym w Katedrze Cytologii i Cytochemii Roślin (2001-2010), a potem specjalisty-biologa w Pracowni Mikroskopii Elektronowej (2010-2014) i Pracowni Obrazowania



Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik Biologicznych (2014-2022) doprowadziło habilitantkę do poziomu badacza naukowego, który może samodzielnie decydować o kierunku swoich badań.

## 4 OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE W RAMACH HABILITACJI

### 4.1 BADANIA WSTĘPNE

Rutenowe dendrymery, w których (p-cym)Ru(II) jest związany z karbasilanowym dendrymerem generacji I i II poprzez wiązania NN-koordynacyjne do fragmentu N-aldimino-2-pirydynowego były zsyntezowane i opisane w 2016 roku w publikacji hiszpańskiej grupy chemii metaloorganicznej (Maroto-Diaz i wsp. *Synthesis and anticancer activity of carbosilane metallodendrimers based on arene ruthenium(II) complexes*, *Dalton Trans.* 45 (2016) 7049-7066). Spośród wielu związków opisanych w tej pracy, wyselekcjonowano metalodendrymery CRD13 i CRD27 (w oryginalnej pracy - związki **5** i **17**). W partnerskiej publikacji z grupą badawczą z UŁ wykazano, że CRD13 w stężeniu około 10  $\mu\text{M}$  powodował hemolizę erytrocytów oraz był cytotoksyczny in vitro względem komórek normalnych B14 i białaczki promielocytowej HL60 (Michlewska et al. *Ruthenium metallodendrimers with anticancer potential in an acute promyelocytic leukemia cell line (HL60)*, 2017 *Eur. Polym.*, 87: 39-47). Dalsze badania dowiodły jednak, że rutenodendrymer generacji I (CRD13) jest selektywnie toksyczny dla HL60 z  $\text{IC}_{50} = 2.3 \mu\text{M}$  w teście 72-godzinnym (Michlewska et al. *Ruthenium dendrimers against acute promyelocytic leukemia: in vitro studies on HL60 cells.* (2019) *Future Med. Chem.*, 11/17 1741-1756). Ponadto wykazano, że CRD13 tworzy dendripleksy z siRNA, chroni polinukleotyd przed degradacją i wnika do komórek HL60 (Michlewska S., et al. *Ruthenium dendrimers as carriers for anticancer siRNA*, 2018 *J. Inorg. Biochem.*, 181: 18-27).

Opisane wyniki wstępne były podstawą do dalszych badań, których wyniki opisano w 10 publikacjach, których współautorem jest habilitantka. Cztery z tych publikacji dotyczące rutenodendrymerów oraz dodatkowo innych metalodendrymerów zostały zdeklarowane jako dorobek habilitacyjny.

### 4.2 ISTOTA OSIĄGNIĘCIA W DOROBKU HABILITACYJNYM

Rutenowy dendrymer karbasilanowy (CRD13) został oznakowany FITC przez kowalencyjne wiązanie do jednej z grup aminowych przez wiązanie tiomocznikowe. Ten zabieg pozwolił na śledzenie drogi wnikania koniugatu do komórek [Hab1]. Pomimo asocjacji CRD13-FITC znakowany dendrymer nie tylko wiązał się z błonami erytrocytarnymi, ale także wnikał do komórek HL60 i był toksyczny dla komórek białaczkowych w stężeniu 5  $\mu\text{M}$ , lecz nietoksyczny dla komórek normalnych (linia PBMC).

Dalsze badania były kontynuowane w dwóch kierunkach. Poprzednio używany CRD13, w którym centra (p-cym)Ru(II) były związane do dendrymeru przez chelat aldiminopirydynowy został zmodyfikowany przez redukcję wiązania C=N do chelatu aminopirydynowego. Tak otrzymane rutenodendrymery generacji I i II były testowane na hodowlach komórkowych in vitro w kombinacji ze znanymi lekami: DOX, MTX i 5-FU [Hab2]. Średnice hydrodynamiczne asocjacji leków z dendrymerami (DOX i MTX) były znacznie większe niż samych asocjacji dendrymerów (ok. 270 nm), podobnie potencjał zeta. Spośród linii testowych komórki HL60 były najmniej odporne na oba rutenodendrymery (w stężeniu 1  $\mu\text{M}$ ), natomiast efekt cytotoksyczny dla linii 1300 i PBMC był mniejszy. Cytotoksyczność asocjacji rutenodendrymerów z DOX, MTX i 5-FU była większa niż samych metalodendrymerów, w szczególności dla mieszaniny 1:1 MTX : metalodendrymer gen I zaobserwowano co najmniej addytywność leku i dendrymeru na liniach białaczkowych.

Obiecujące wyniki tych badań in vitro pozwoliły na testowanie analogicznych układów in vivo na modelu zwierzęcym (myszy BALB/c z wszczepionym nowotworem piersi 4 T1) [Hab3]. Oddziaływania hydrofobowe prowadziły do asocjacji dendrymeru CRD13 z DOX, 5-FU lub MTX, wzrostu potencjału zeta, a komputerowa symulacja oddziaływania pomiędzy CRD13 i lekami pozwoliła na oszacowanie entalpii swobodnej tworzenia asocjacji. Wartość  $\Delta G = -20 \text{ kcal/mol}$  dla



DOX i MTX lub  $-10$  kcal/mol dla 5-FU jest na poziomie o rząd wyższym niż energia pojedynczego wiązania wodorowego, ale także kilka razy niższa niż energia wiązania kowalencyjnego. Otrzymane w wyniku symulacji wartości  $\Delta G$  są zgodne z oczekiwaniem dla zwielokrotnionych oddziaływań hydrofobowych. Badania na modelu zwierzęcym wykazały, że sam dendrymer CRD13 prowadził do zmniejszenia masy guza po 7 dniach dawkowania, jednak terapia kombinowana z DOX-em nie wykazała ani addytywności ani synergii leku z CRD13, poprzednio obserwowanej *in vitro*. Prawdopodobną przyczyną braku synergii było słabe wnikanie silnie zasocjowanej postaci leku.

Logiczną konsekwencją ciągu badawczego była hipoteza, że rutenowe dendrymery karbasilanowe jako nośniki o wysokim potencjale dodatnim ułatwiającym wnikanie przez błony komórkowe oraz liposomy, które są biokompatybilnymi formami przenoszenia leku przez błony komórkowe, mogą łącznie doprowadzić do wytworzenia DDS o wysokim stopniu dyspersji kompleksów i dalszego postępu w powinowactwie tych trójskładnikowych układów do błon komórkowych. We wstępnych badaniach z udziałem CRD13-FITC oraz fosfolipidu DMPC (1,2-dimirystoilo-1-*sn*-glicerolo-3-fosfocholina) opracowano procedurę efektywnego wytwarzania liposomów częściowo wypełnionych kompleksem CRD13-FITC-DOX, scharakteryzowano je strukturalnie, określono wstępnie ich zdolność do wiązania do błon erytrocytarnych, prześledzono wnikanie do komórek oraz określono cytotoksyczność otrzymanych trójskładnikowych układów 1:1:100 CRD13:DOX:DMPC (LLD) oraz oddzielnie składników tego systemu DDS [Hab4]. Test hemotoksyczności LLD na erytrocytach dowiódł, że trójskładnikowe układy są mniej hemotoksyczne niż CRD13 i CRD13-DOX, natomiast test przeżywalności komórek HEK 293 i nowotworowych MCF-7 pozwolił na wyznaczenie IC<sub>50</sub>, które dla LLD otrzymanego na drodze hydrofilowej wyniósł ca  $5 \mu\text{M}$  w porównaniu do DOX zamkniętej w liposomach, gdzie IC<sub>50</sub> było  $10 \mu\text{M}$  dla linii MCF-7.

Ustalona metodyka badawcza w serii prac z rutenodendrymerami została zastosowana, gdy ksonobiotyczny *para*-cymeno-ruten został zastąpiony jonem miedzi skoordynowanym chelatowo przez aldimino-pirydynowy terminalny ligand w karbasilanowym dendrymerze generacji I i II [Hab5 i Hab 6]. Wykazano, że miedziodendrymer gen I (CCD-CI) tworzy trwałe połączenia z wybranymi pro-apoptycznymi siRNA, utworzony dendripleks (o stechiometrii nośnik : siRNA = 1:30) wnika do komórek MCF-7 i jest cytotoksyczny bardziej niż sam dendrymer [Hab5]. Ponadto miedziodendrymery CCD zostały użyte jako nośniki leków antynowotworowych: DOX, MTX i 5FU. Asocjaty zostały scharakteryzowane strukturalnie i użyte w stężeniach subtoksycznych przeciw komórkom linii nowotworowych MCF-7 i HEP G2 w celu prześledzenia dróg i dynamiki wnikania do komórek w czasie do 48 i 72 godz technikami mikroskopii konfokalnej i cytometrii przepływowej [Hab6]. Kombinacje  $0.1 \mu\text{M}$  CCD z lekami w wyższych stężeniach były toksyczne a najsilniejsza synergia była obserwowana dla kombinacji MTX z CCD przeciw linii MCF7. Wykazano także, że depolaryzacji błon mitochondrialnych towarzyszyła dominująco wczesna apoptoza (dla MCF7) lub późna (dla HEK G2) w teście 48 godzinowym względem nekrozy. Wyniki tej części projektu habilitacyjnego dowiodły, że miedziowe karbasilanowe dendrymery są obiecującymi nośnikami siRNA i standardowych leków antynowotworowych, umożliwiając transfekcję i synergię leków i nośnika. Prawdopodobnie dalsza droga badawcza na modelach zwierzęcych jest już w trakcie realizacji podobnie jak dla rutenodendrymerów uprzednio zbadanych.

**Reasumując, w serii zaawansowanych koncepcyjnie i technicznie publikacji zademonstrowano, że metalodendrymery są obiecującymi nośnikami siRNA oraz aktywnymi czynnikami przeciwnowotworowymi a w kombinacji z niskcząsteczkowymi lekami jak DOC i MTX wykazują efekt synergiczny. Ta konkluzja jest odzwierciedleniem istoty osiągnięcia badawczego w ramach zaprezentowanej habilitacji.**

## 5 AUTOREFERAT I DALSZE PLANY BADAWCZE

Autoreferat składa się z wstępu (4.3.1.) i opisu głównego osiągnięcia badawczego w ramach habilitacji (4.3.2. i 4.3.3.). Te części autoreferatu są klarowne i są doskonałym źródłem wstępnej wiedzy dla czytelnika. Opis pozostałych osiągnięć naukowych jest kompilacją imponującego dorobku naukowego habilitantki (4.3.5.).



Plany badawcze (9) habilitantki są rozległe, a część z nich dotyczy tematyki metalodendrymerów we współpracy z chemikami z Uniwersytetu Alcalá de Henares. Projekt ten powinien się rozwijać dalej, a celem nadrzędnym jest udoskonalenie metalodendrymerów jako nośników. Habilitantka jest przygotowana do testów *in vivo* (we współpracy z dr Wójkowską z ŁUM) na wypadek otrzymania spektakularnego rezultatu potwierdzonego testami *in vitro*.

## 6 UWAGI I PORADY

6.1 Rutenowe dendrymery (CRD13, CRD13-FITC i wyższej generacji) [Hab1, Hab3, Hab5, hab5] a także aminopirydynowe analogi [Hab2] zawierają jony chlorkowe lub azotanowe w sferze koordynacji metalu lub jako nie-skoordynowane do metalu przeciw-jony. Wymiana jonów  $\text{Cl}^-$  na inne aniony [Hab2, Rys.3] lub ligandy  $\text{H}_2\text{O}$  w pierwszej sferze koordynacji zachodzi w czasach rzędu godzin [Huang et al., Synthesis, characterization and biological evaluation of labile intercalative ruthenium(II) complexes for anticancer drug screening. Dalton Trans (2016) 45, 13135-13145]. Używane w badaniach rutenodendrymery w postaci chlorkowej nie były analizowane (analiza elementarna) na zawartość chlorków, nie ma więc dowodu na ich obecność w pierwszej sferze koordynacji metalu. Pomiar przewodnictwa elektrycznego rutenowych dendrymerów (CRD13 i wyższe) może dostarczyć cennej informacji na temat obecności jonów lub skoordynowanych cząsteczek wody w tych związkach.

6.2 Karbasilanowe dendrymery z miedzią(II) są bardziej labilne niż kompleksy rutenu(II) i dlatego trzy miejsca koordynacji centrów  $\text{Cu(II)}$  mogą być zajęte przez aniony  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , lub  $\text{OH}^-$  [Hab5, Rys.1]. Wyraźnie rodzaj anionu (liganda) ma wpływ na siłę oddziaływania dodatnio naładowanych miedziodendrymerów z siRNA (dane CD [Hab5] – rys.7) oraz na zdolność do wnikania dendripleksów do komórek [Hab5 – Rys.8] i ich wpływ na cykl komórkowy [Hab5 – Rys.9], jak również na zdolność do oddziaływania z lekami [Hab6]. W przypadku karbasilanowych dendrymerów miedziowych w roztworach (podłożach do hodowli komórkowych) równowagi pomiędzy różnymi formami centrów  $\text{Cu(II)}$  (w sferze koordynacyjnej) ustalają się szybko (w czasach sek-min), więc obserwowane efekty biologiczne są uśrednione dla tych form. W przypadku rutenodendrymerów sfera koordynacyjna  $\text{Ru(II)}$ , choć częściowo zablokowana *p*-cymenem, również może podlegać modyfikacjom. Możliwe jest zastąpienie jonów  $\text{Cl}^-$  na inne aniony, w tym anion fluorkowy, na etapie syntezy, po izolacji formy chlorkowej. Byłoby interesujące zbadać aktywność biologiczną takich rutenowych pochodnych, ponieważ nie ma wielu dostępnych rezultatów dotyczących biologicznej aktywności jonów fluorkowych. Reakcją wymiany  $\text{Cl}^-$  na  $\text{F}^-$  dla chlorkowej postaci CRD13 lub nawet analogu G0 można elegancko prześledzić przy pomocy  $^{19}\text{F}$  NMR. Ta metoda odróżni nawet zewnątrzsferowy i skoordynowany anion  $\text{F}^-$ .

6.3 Czy w pracach opisanych w [Hab4] monitorowano wnikanie tylko CRD13-FITC na mikroskopie konfokalnym, czy także DOX? Nie jest to opisane w publikacji; te fluorofory mają one wystarczająco różne długości fali maksimum fluorescencji, aby je oddzielnie widzieć. Chyba warto taki eksperyment przeprowadzić, aby znaleźć odpowiedź na pytanie, czy internalizacja DOX jest jednoczesna z internalizacją CRD-FITC. Do tego same liposomy skonstruowane na bazie DMPC też można delikatnie wyznakować. Potencjał takich eksperymentów jest duży, chociaż obróbka danych eksperymentalnych jest wyzwaniem (zmiany fluorescencji w czasie rzeczywistym w dwóch/trzech kanałach).

6.4 *Bioconjugates*. Ten termin jest zarezerwowany i powszechnie używany dla złożonych DDS, w których lek jest kowalencyjnie połączony z nośnikiem. Tak więc CRD13-FITC jest koniugatem, w którym FITC jest związany przez wiązanie tiomocznikowe (nie isothiocyanate bond, wiązanie izotiocyanianowe [Hab1, punkt 3.1.]). Zarówno siRNA, jak i pojedyncze leki DOX, MTX i 5FU nie tworzą z metalodendrymerami koniugatów, lecz raczej należałoby je nazwać asocjatami lub w kompleksami. To tylko nomenklatura (nazewnictwo), ale ma też swoje ograniczenie, np. dendrymery miedziowe CCD mają możliwość wymiany ligand L w pierwszej sferze koordynacji na skoordynowane DOX (chętnie przez grupę aminową), MTX (grupa karboksylowa lub azot aromatyczny), 5-FU (przez atom azotu aromatyczny po deprotonacji).

6.5 Kationowy charakter metalodendrymerów (wysoki ładunek dodatni rdzenia, nawet w CRD13) prowadzi do silnego oddziaływania z anionami, a ponadto dla pochodnych *p*-cymeno-rutenowych



międzycząsteczkowe oddziaływania części hydrofobowych (*p*-cymeno), powoduje dramatyczny poziom asocjacji. O ile średnica samego CRD13 jest prawdopodobnie <5 nm na poziomie dyspersji monomolekularnej, to asocjaty mają rozmiary > 250 nm. Dodatek do takiego układu DOX, MTX, czy FU powoduje jeszcze większą asocjację, co może rzeczywiście wykluczać endocytozę tych obiektów. Próba zdyspergowania tych asocjacji przez DMPC nie powiodła do celu. Co można jeszcze zrobić ?

## **7 INNE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE**

Imponujący dorobek naukowy habilitantki opisany skrótowo w Autoreferacie i wymieniony w Załączniku 3 jest wielokierunkowy. W szczególności dotyczy on: liniowych i rozgałęzionych PEI, modyfikacji liniowego PEI tyrozyną na N-końcach, dendrymerów polifenolowych i ich oddziaływań z HSA, czy prac o profilu fizjologii medycznej we współpracy z grupami lekarzy (Chałubiński, Lewkowicz, UMED).

Łączny dorobek publikacyjny powiązany z tematyką habilitacyjną to 41 publikacji po uzyskaniu stopnia doktora i 13 publikacji do doktoratu.

Wyniki prac badawczych były także prezentowane społeczności naukowej wielokrotnie na konferencjach (19 po i 20 przed doktoratem wystąpień konferencyjnych).

Konkludując, dorobek sumaryczny pracy naukowej dr Sylwii Michlewskiej, jest bardzo dobry, a doświadczenie zgromadzone w wyniku realizacji wielu projektów naukowych, jest ogromne.

## **8 WSPÓŁPRACA NAUKOWA**

Dr Michlewska uczestniczyła w wielu projektach badawczych międzyuczelnianych i w zespołach międzynarodowych i aktywnie pozyskiwała środki grantowe na prowadzenie badań, w tym jako kierownik w projektach MINIATURA i IDUB i jako wykonawca lub główny wykonawca w projekcie NCN BEETHOVEN LIFE-1 i NAWA.

Wyrażam nadzieję, że NCN powróci do swojej roli, poziom finansowania projektów badawczych wzrośnie do takiego, że 25 % Grantów będzie zakwalifikowanych do finansowania. Habilitantka ma odpowiednio duży dorobek publikacyjny aby skutecznie otrzymać Grant w kategorii OPUS jako wnioskodawca i kierownik projektu.

Dr Michlewska współpracuje z wieloma naukowcami, którzy są autorytetami zarówno w UŁ, jak w UMDE i PŁ i pełniła dla nich funkcje kluczowego wykonawcy w różnych projektach.

Reasumując, dr Michlewska jest pożądanym i aktywnym współpracownikiem dla wielu samodzielnych badaczy w kraju i za granicą.

## **9 POZYCJA MIĘDZYNARODOWA**

Dr Michlewska od 2016 aktywnie kształtowała swoją wiedzę poprzez staże naukowe w ramach programu Erasmus (4 staże, poczynając od 2016 roku).

Dr Michlewska współpracuje z naukowcami z różnych dziedzin również z ośrodków naukowych poza Polską: grupa chemików z Uniwersytetu de Alcalá (Hiszpania), Comenius University (Słowacja), Uniwersytet Usti nad Labem (Czechy), University of Athens (Grecja), BAN Mińsk (Białoruś), Euro-Med University Fez (Maroko), University of Leipzig (Niemcy). Łączna liczba publikacji z badaczami spoza Polski wynosi 35.

Pozycja międzynarodowa dr Michlewskiej jako cenionego współpracownika jest wyróżniająca.

## **10 DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA I ORGANIZACYJNA**

Dr Sylwia Michlewska jest adiunktem na ŁU od 2022 roku. Oprócz standardowych zajęć dydaktycznych dr Michlewska prowadzi działalność dydaktyczną na najwyższym poziomie

profesjonalizmu, tj współuczestniczy jako kopromotor w pracach badawczych doktorantów (mgr Hołota i mgr Grodzicka).

Dr Michlewska była współorganizatorem wielu warsztatów edukacyjnych w latach 2017-2023 (siedmiokrotnie). Habilitantka pełni podstawową rolę techniczną w laboratorium, włączając w to uczenie i trening badaczy w Pracowni Obrazowania Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik Biologicznych.

#### **WNIOSEK KOŃCOWY**

Dr Sylwia Michlewska jest autorką 67 publikacji. Współczynnik Hirsha dr Michlewskiej wynosi 13, a liczba cytowań (bez autocytowań) wynosi 424 (średnio 8 na publikację).

Dorobek naukowy przedstawiony do habilitacji oraz tematycznie powiązany z osiągnięciem habilitacyjnym jest bardzo dobry.

Dr Sylwia Michlewska jest cenionym współpracownikiem dla krajowych i zagranicznych badaczy.

Dr Sylwia Michlewska uczestniczy jako podstawowy wykonawca w projektach badawczych, organizacji działalności naukowej i dydaktycznej w swojej Jednostce naukowej.

Dr Sylwia Michlewska spełnia wszystkie wymogi do otrzymania stopnia doktora habilitowanego w dyscyplinie nauki biologiczne.

Podsumowując stwierdzam, że zarówno dorobek naukowy, przedstawione w autoreferacie „osiągnięcie naukowe”, jak i działalność organizacyjno-dydaktyczna Habilitantki spełniają wymagania merytoryczne i formalne, stawiane przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2023 poz. 742 ze zm., dalej p.s.w.n) oraz wewnętrzne regulacje Uniwersytetu Łódzkiego (Regulamin określający szczegółowy tryb postępowania w sprawie nadania stopnia dr i dr hab. w UŁ). W oparciu o to, z pełnym przekonaniem przedkładam Komisji ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego wniosek o nadanie Pani dr Sylwii Michlewskiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk biologicznych.



Prof. dr hab. inż. Stanisław Wołowicz  
Kolegium Nauk Medycznych  
Uniwersytet Rzeszowski