



Prof. dr hab. Julia Jezierska
Wydział Chemii
Uniwersytet Wrocławski
50-387 Wrocław
ul. Joliot-Curie 14
julia.jezierska@chem.uni.wroc.pl

Wrocław, 25 marca 2019 roku

**Recenzja osiągnięcia naukowego oraz aktywności naukowej, dydaktycznej
i organizacyjnej dr Hanny Lewandowskiej-Siwkiewicz
w związku z postępowaniem habilitacyjnym**

Osiągnięcie naukowe dr Hanny Lewandowskiej-Siwkiewicz nosi tytuł. *Dinitrozyłowe kompleksy żelaza – synteza, struktura i biologia* i jest zawarte w cyklu publikacji, które wraz z załączoną charakterystyką dorobku naukowego, dydaktycznego oraz organizacyjnego stanowią podstawę wniosku o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Dr Lewandowska-Siwkiewicz, jest adiunktem w Zakładzie Naukowym-Centrum Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie, gdzie po zakończeniu studiów w 2001 roku na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego rozpoczęła pracę jako asystentka. W roku 2006 uzyskała stopień doktora na podstawie pracy pt. *Powstawanie, struktura i przemiany dinitrozyłowych kompleksów żelaza w modelowych układach biologicznych* wykonanej pod opieką naukową promotora, prof. dra hab. Marcina Kruszewskiego. W latach 2006-2008 i 2010-2013 przebywała na urlopie macierzyńskim i wychowawczym.

Monotematyczna seria **8 publikacji stanowiących rozprawę habilitacyjną** to 5 oryginalnych publikacji oraz 3 artykuły przeglądowe, które ukazały się w czasopiśmie o dużym sumarycznym współczynniku wpływu **IF około 24**. Były one **cytowane ponad 70 razy**.

Swój wkład do oryginalnych, wieloautorskich publikacji Habilitantka szacuje na 65 % w jednej, a w pozostałych na 70 % będąc w swojej opinii autorem koncepcji, wykonawcą większości doświadczeń i ich interpretacji, rysunków i tabel oraz finalnej wersji manuskryptu i odpowiedzi na uwagi recenzentów. **W 4 ostatnich pracach jest autorem korespondencyjnym**. W artykule przeglądowym z 2011 roku w Dalton Transactions była autorką 9 spośród 14 rozdziałów. W 2 artykułach przeglądowych w Structure and Bonding napisanych na zaproszenie, jest jedynym autorem. Te deklaracje wkładu do publikacji są zgodne z oświadczeniami współautorów dowodząc, że Habilitantka miała zdecydowanie rolę dominującą.

Śledząc rozwój badań Pani dr Lewandowskiej-Siwkiewicz, które dotyczą tematu jej rozprawy habilitacyjnej, można zauważyć, że przygotowywała się do jej realizacji od bardzo dawna. Świadczy o tym tematyka pracy doktorskiej, której wyniki można poznać z doniesień w Annual Reports ICHTJ w latach od 2003 do 2007. Prace te dotyczyły różniących się od obecnych warunków syntez i aktywności biologicznej kompleksów DNIC oraz sposobów ich monitorowania a ich wykonawczyni już wtedy zdobywała cenne doświadczenie eksperymentalne i koncepcyjne. Znaczne rozszerzenie obszaru badań w późniejszym okresie, zastosowanie nowoczesnych technik badawczych, nowych działań eksperymentalnych, podjęcie współpracy z innymi specjalistami, a także zdobycie grantu, pozwoliło na otrzymanie wyników i ich interpretację na poziomie wystarczającym, aby mogły być zaakceptowane do publikacji w cenionych czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Tematyka cyklu habilitacyjnego dotyczy bardzo interesujących kompleksów dinitrozylowych żelaza (DNIC), które w swoim składzie zawierają 3 składniki o zasadniczym znaczeniu dla żywych organizmów; są to jon żelaza, rodnikowy tlenek azotu oraz ligandy biologiczne z grupami tiolowymi lub imidazolowymi. Kompleksy DNIC, tworzone dzięki dużemu powinowactwu NO do żelaza, uważa się za regulatory osłabiające toksyczne działania obydwu tych składników, a także transportery do miejsc gdzie są one niezbędne.

Pierwszym znaczącym sukcesem naukowym Pani dr Lewandowskiej-Siwkiewicz w ramach cyklu prac habilitacyjnych było wykazanie **kluczowej roli żelaza lizosomalnego w tworzeniu kompleksów dinitrozylowych żelaza**, (publikacja [A]). Wyniki badań zdecydowanie świadczyły, że kompleksy DNIC tworzą się w obrębie komórek eukariotycznych w lizosomie, ponieważ przez wprowadzenie do niego silnych chelatorów i utworzenie trwałych kompleksów z jonami żelaza, pomimo obecności NO, nastąpiło znaczne obniżenie ilości tworzonych kompleksów DNIC (m.in. z grupami tiolowymi małowcząsteczkowych ligandów) względem pełnej zawartości żelaza w jego labilnej puli (LIP) w tych komórkach. Dodatkowo, przez zahamowanie naturalnej zdolności lizosomu do degradacji białek zaopatrujących LIP w jony żelaza następował znaczny spadek tworzonych kompleksów DNIC w tym lizosomie.

W roku 2011 Pani dr Lewandowska-Siwkiewicz została **wiodącą autorką w przeglądowym artykule** *Nitrosyl iron complexes—synthesis, structure and biology* w Dalton Transactions, Perspectives, (publikacja [B]). Opracowanie danych literaturowych dla większości rozdziałów wymagało dokładnego zapoznania się z dotychczasową wiedzą na temat: budowy elektronowej i molekularnej DNIC, charakterystyki spektroskopowej (UV-Vis i EPR) oraz krystalograficznej promieniami X, źródeł kompleksów DNIC tworzonych w komórkach. Kilka lat później **została zaproszona do samodzielnego napisania dwóch przeglądowych artykułów w Structure and Bonding**, (publikacje [D] i [E]) na temat spektroskopowej charakterystyki kompleksów nitrozylowych żelaza, ich chemii koordynacyjnej i jej biologicznych implikacji, co było wyrazem dobrego przyjęcia artykułu [B] oraz uznania jej jako specjalistki w tej dziedzinie. **Dobre rozpoznanie osiągnięć innych badaczy, dzięki napisaniu tych artykułów, pozwoliło Habilitantce szczegółowo i bardzo wnikliwie korzystać z wyników literaturowych i przeprowadzać na doskonałym poziomie interpretację i dyskusję wyników własnych uzyskiwanych we wszystkich pracach oryginalnych.**

Osiągnięcia przedstawione w publikacji [C] poświęconej kompleksom dinitrozylowym z histydyną mają dużą wartość, szczególnie, gdy zestawia się je z wynikami badań nad innym małowcząsteczkowym kompleksem DNIC z ligandem glutationowym (publikacja [F]). Glutation uzupełniający strefę koordynacyjną dinitrozylowego kompleksu modeluje białka z bardzo rozpowszechnionymi w układach biologicznych grupami tiolowymi, podobnie jak histydyna modeluje białka z grupami imidazolowymi. Na podstawie zmian strukturalnych nici DNA obserwowanych w widmach CD wykazano, że obydwie niskocząsteczkowe DNIC w zależności od stężenia zmieniają konformację DNA jedynie w pH 6 podobnie jak jony Fe^{2+} . Co więcej, brak tych efektów w innym pH i przy innej sile jonowej środowiska umożliwiły **wysunięcie ciekawej hipotezy, że oddziaływanie DNIC-DNA ma charakter jonowy** (publikacje [C] i [F]). Natomiast genotoksyczność niskocząsteczkowych DNIC zbadana w teście przerywania nici plazmidowego DNA w obecności H_2O_2 , okazała się znacznie słabsza dla DNIC-glutation niż DNIC-histydyna. Przypisano to dużo większej trwałości DNIC z glutationem, wykazanej, gdy na obydwie kompleksy podziałano konkurencyjnym ligandem, deferoksamina. **Stąd Habilitantka wykazała, że NO wiążąc się z jonami żelaza i odpowiednimi ligandami w DNIC może pełnić funkcje ochronne w warunkach stresu oksydacyjnego w reakcji Fentona.**

Istotny udział lipoprotein o niskiej gęstości (LIP) wraz z NO i jonami żelaza w układzie sercowo-naczyniowym stał się inspiracją do podjęcia przez Habilitantkę badań nad dinitrozolowymi kompleksami żelaza z lipoproteiną o słabej gęstości (LDL), złożonej głównie z białka ApoB100, oraz nad skutkami ich działania na komórki wątrobiaka (publikacja [G]). Uzyskane wyniki wskazują, że proteina zawarta w kompleksie DNIC-LDL może być bardzo wydajnym nośnikiem przede wszystkim żelaza, ale też tlenu azotu, do komórek wątroby, wobec której kompleksy DNIC-LDL wykazują biodostępność.

Kontynuując rozpoznawanie aktywności biologicznej kompleksów dinitrozolowych z lipoproteinami, DNIC-LDL, Habilitantka wykazała w pracy [H], że kompleksy te ulegają znacznie wydajniejszej absorpcji przez komórki mysich makrofagów niż przez komórki wątroby, podczas gdy dla obydwu typu komórek są tak samo mało toksyczne. Uzyskała też dowody, że związanie żelaza w dobrze przyswajalny kompleks DNIC-LDL silnie obniża genotoksyczność badaną w teście cięcia nici plazmidowego DNA przez reaktywne formy tlenu generowane z H₂O₂ w reakcji Fentona. Zaobserwowano znacznie słabszą aktywację indukowanej syntazy tlenu azotu w mikrofach przez kompleks DNIC-LDL, skądinąd zdolny do donacji NO, w porównaniu z innymi formami LDL.

Należy podkreślić wyjątkowo różnorodną metodologię badań w przedstawionych pracach i znakomite posługiwanie się przez Kandydatkę technikami eksperymentalnymi zarówno fizykochemicznymi jak i typowo biologicznymi. Zastosowanie tych metod pozwoliło na uzyskanie bardzo komplementarnych wyników. W pracach oryginalnych Pani dr Lewandowska-Siwkiewicz stosowała m.in. metody biologii molekularnej, cytologiczne i genotoksyczne, a także typowo analityczne jak ASA, spektrometria mas, fluorometria oraz spektroskopie klasyczne, UV/VIS, CD, IR i EPR, użyte na wysokim poziomie w celu identyfikacji i oceny ilościowej utworzonych kompleksów oraz ich struktury elektronowej i molekularnej. Przeprowadzana analiza statystyczna zapewniła rzetelność wyników badań biologicznych

Opinia o dorobku naukowym, dydaktycznym i organizacyjnym

Pani dr Lawendowska–Siwkiewicz jest autorką lub współautorką ogółem **17 publikacji** w czasopismach, które posiadają współczynnik wpływu i których **sumaryczny IF wynosi około 49**; daje to **średni IF bliski 3**. Wg Citation Report z Web of Science prace te były **cytowane**, bez autocytowań, **około 340 razy**. Indeks cytowań, tzw. **Indeks Hirscha = 9**. Habilitantka jest ponadto współautorem 13 publikacji w czasopismach nie posiadających IF, oraz 2 opublikowanych abstraktów konferencyjnych. Jest też **współautorem 1 patentu**. **Wygłosiła 5 wykładów** na konferencjach, w tym 2 wykłady na zaproszenia. Jej osiągnięcia wraz z współautorami były **15 razy prezentowane na konferencjach** międzynarodowych, w tym 2 razy na krajowych.

O aktywności naukowej po doktoracie i zdolności Habilitantki do współpracy z innymi badaczami dobrze świadczy jej **udział w charakterze wykonawcy w 5 projektach** finansowanych przez MNiSW (trzykrotnie), NCN i NCBiR w dziedzinie poszukiwań i charakterystyki fizykochemicznej substancji naturalnych bezpiecznych dla środowiska o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, przeciwnowotworowym i przeciwutleniającym. Jednak **najważniejszym dla dorobku habilitacyjnego było zdobycie i kierowanie grantem Sonata (2013-2018)**, którego zadaniem była charakterystyka fizykochemiczna i biochemiczna nitrozolowych kompleksów żelaza jako nośników NO.

Niewątpliwie duże znaczenie dla zdobycia doświadczenia badawczego miały **staże naukowe**, które Habilitantka odbyła 5 razy w trakcie różnych okresów, w tym w Instytucie Raka w Houston w USA, w Instytucie Chemii Substancji Naturalnych we Francji w Gif-sur-Yvette, w Departamencie Chemii na Uniwersytecie Warwick (w Laboratorium Lipoprotein) oraz w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technicznym w Szczecinie.

Poza stażami naukowymi **nawiązała współpracę naukową** z Heinrich Heine Univ., Univ. of Cordoba, Univ. of Burgundy, Tech. Univ. of Munich i TimacAGRO, w ramach umowy multilateralnej IChTJ, a także z Uniwersytetem w Mediolanie w ramach grantu NCN.

Uzyskała **2 Nagrody Zespołowe oraz nagrodę indywidualną** Dyrektora ICHTJ za dorobek naukowy, złoty medal za zgłoszenie patentowe od Stowarzyszenia Polskich Wynalazców i Racjonalizatorów.

Pracując w instytucie badawczym, który nie pozostaje w strukturze uczelni wyższej, Pani dr Lewandowska-Siwkiewicz **w ramach działalności dydaktycznej prowadziła** przez rok (2007/2008) wykłady z chemii ogólnej i laboratorium dla studentów kierunku pielęgnacyjnego w Państwowej Wyższej Szkole Informatyki i Przedsiębiorczości w Łomży oraz cykl warsztatów doświadczalnych w Szkole Podstawowej w Ożarowie Mazowieckim. W 2018 roku, została promotorem pracy magisterskiej studentki Wydziału Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, której była opiekunem. Obecnie **sprawuje opiekę naukową nad doktorantką** w ramach studium doktoranckiego programu Radfarm (NCBiR). Prowadziła wielokrotnie **działalność popularyzatorską** w ramach imprez propagujących naukę w ramach Pikników Naukowych Polskiego Radia w Warszawie.

Habilitantka wykonała recenzje 3 wniosków konkursowych dla programu Horizon 2020: *2018 Marie Curie Individual Fellowship* oraz **napisała 6 recenzji prac zleconych przez reakcję czasopism** o zasięgu międzynarodowym, m.in. do Inorganic Chemistry i Journal of Inorganic Biochemistry. Do **działalności organizacyjnej** należy jej udział w przygotowaniu dwóch konferencji międzynarodowych.

W podsumowaniu wyrażam opinię, że dorobek naukowy dr Lewandowskiej -Siwkiewicz jest poważny i wartościowy, a jej wkład w rozwój chemii i funkcji biologicznych dinitrozylowych kompleksów żelaza z niskocząsteczkowymi ligandami pochodzenia biologicznego jest znaczący. Uzyskane wyniki świadczą o jej dużej kreatywności oraz dojrzałym i efektywnym stosunku do pracy naukowej. Dała się poznać jako bardzo dobry eksperymentator oraz dowiodła dużych umiejętności interpretacyjnych. Dr Lewandowska-Siwkiewicz jest dojrzałą badaczką bardzo dobrze przygotowaną do samodzielnej pracy i realizacji swoich planów badawczych.

W moim przekonaniu przedstawiona mi do oceny rozprawa habilitacyjna prezentuje wysoki poziom naukowy, spełnia wszystkie wymogi formalne jak i kryteria zwyczajowe stawiane przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora habilitowanego nauk chemicznych w dyscyplinie chemia i wraz z całkowitym dorobkiem naukowym, organizacyjnym i dydaktycznym stanowi podstawę do nadania jej stopnia doktora habilitowanego nauk chemicznych.

Jestem przekonana, że wniosek dr Hanny Lewandowskiej-Siwkiewicz o nadanie jej stopnia naukowego doktora habilitowanego jest w pełni uzasadniony i wniosek ten popieram.

