

**Opinia o dorobku naukowym Pani dr inż. Iwony Lasockiej
zatrudnionej w Instytucie Nauk o Zwierzętach
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.**

Podstawa opracowania opinii:

Wniosek Pani dr inż. Iwony Lasockiej o prowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Pismo Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo z dnia 20.10.2023 z prośbą o ocenę czy dorobek naukowy dr inż. Iwony Lasockiej, ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego spełnia wymagania określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r., poz. 742).

Pismo Pana Dyrektora Instytutu Nauk o Zwierzętach dr hab. Marcina Gołębiowskiego z dnia 08.12.2023 (INZ-86/2023) stwierdzające, że recenzja powinna być wykonana w języku polskim.

Prezentacja sylwetki Pani dr inż. Iwony Lasockiej

Pani Iwona Lasocka ukończyła studia na Wydziale Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (SGGW) w 2007 roku. W 2011 roku obroniła doktorat na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej, SGGW i uzyskała stopień doktora nauk weterynaryjnych. Od 2012 roku Kandydatka jest zatrudniona w Zakładzie Biologii Środowiska Zwierząt Instytutu Nauk o Zwierzętach, SGGW.

Ocena dorobku naukowo-badawczego, będąca podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Ocena merytoryczna

Osiągnięcie naukowe pt. „Cytokompatybilność monowarstw grafenu jako rusztowanie dla komórek biorących udział w procesie gojenia się ran skóry (badania *in vitro*) – planowane zastosowania w higienie zwierząt” zostało udokumentowane w postaci 6 publikacji naukowych, które stanowią uzupełniający się cykl badań naukowych. Dwie publikacje (PI, PIII) mają charakter przeglądowy, natomiast pozostałe cztery prace (PII, PIV, PV, PVI) są oryginalnymi artykułami naukowymi. Prace zostały oblikowane w renomowanych czasopiśmie międzynarodowych, takich jak *Nanotoxicology*, *International Journal of Nanomedicine* i *Materials*. Publikacje są dziełami wieloautorskimi; Kandydatka jest pierwszym autorem wszystkich prac. We wszystkich pracach udział Kandydatki był dominujący i obejmował kluczowy zakres prac, taki jak opracowanie koncepcji badań, opracowanie metodologii badań, zebranie i ocena wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

PI Jesion Iwona, Skibniewski Michał, Skibniewska Ewa, Strupiński Włodzimierz, Szulc-Dąbrowska Lidia, Krajewska Aleksandra, Pasternak Iwona, Kowalczyk Paweł, Pińkowski Roman, 2015: Graphene and carbon nanocompounds: biofunctionalization and applications in tissue engineering. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29, 3, 415-422. DOI:10.1080/13102818.2015.1009726.

Publikacja ta jest pracą przeglądową ukazującą aktualną (2015 rok) wiedzę na temat funkcjonalizacji i zastosowań nanomateriałów grafenowych. Wnikliwie opisano wpływ grafenu na adhezję, proliferację i różnicowanie komórek, z uwzględnieniem różnych linii komórkowych. Autorzy podkreślają, że biokompatybilność jest kluczowym czynnikiem determinującym wykorzystanie grafenu w rekonstrukcji tkanek. W konkluzji pracy podkreślono, że grafen może znaleźć zastosowanie jako rusztowanie w terapii tkankowej. Artykuł jest napisany w sposób przejrzysty, uwzględniający wyniki związane z mechanizmem działania grafenu oraz wskazujący dalsze kierunki badawcze, które są rozwijane w kolejnych artykułach.

PII Lasocka Iwona, Szulc-Dąbrowska Lidia, Skibniewski Michał, Ewa Skibniewska, Włodzimierz Strupinski, Iwona Pasternak, Hubert Kmiec, Paweł Kowalczyk, 2018: Biocompatibility of pristine graphene monolayer: scaffold for fibroblasts. *Toxicology in Vitro*, 48, 276-285.

Potencjalne zastosowanie grafenu, jako rusztowania dla wzrostu i rozwoju komórek, ma kluczowe znaczenie dla opracowania szybkich i skutecznych procedur regeneracji uszkodzeń tkanek. W pracy opisano wyniki oceny potencjalnej cytotoksyczności monowarstwy grafenu. Po raz pierwszy Autorzy ocenili wpływ monowarstw grafenu na cytoszkielet fibroblastów L929 dostarczając cenne konkluzje i wnioski. Wyniki badań wyraźnie wskazują, że żywotność komórek L929, hodowanych na rusztowaniu grafenowym, nie różniła się od grupy kontrolnej, a co ciekawe, proliferacja komórek była znacznie bardziej aktywna. Stwierdzono, że rusztowanie z monowarstwy grafenu nie wpływa na organizację sieci mikrotubul i nie jest toksyczne dla komórek fibroblastów L929.

PIII Lasocka Iwona, Jastrzębska Elżbieta, Szulc-Dąbrowska Lidia, Skibniewski Michał, Pasternak Iwona, Hubalek Kalbacova Marie, Skibniewska Ewa, 2019: The effects of graphene and mesenchymal stem cells in cutaneous wound healing and their putative action mechanism. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 2281-2299. DOI:10.2147/IJN.S190928.

Powyższa praca ma charakter przeglądowy (2019), wprowadzający i podsumowujący postęp badań nad wpływem grafenu i mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) na gojenie się ran. Dokładnie przedstawiono i omówiono potencjał terapeutyczny MSC, rozwijających się na rusztowaniu grafenowym. Podkreśla się, że potencjalne zastosowania grafenu zależą od metody jego produkcji, właściwości fizykochemicznych, formy obróbki i metod oceny. Wymieniono i poddano ocenie wybrane techniki charakteryzacji morfologii grafenu. Autorzy podkreślili, że biokompatybilność rusztowań grafenowych jest różna dla różnych form nanokompleksów grafenu, co pokazuje zalety i wszechstronność stosowania monowarstw grafenu. Na podstawie dużej liczby prac (176 pozycji literatury) i badań własnych podsumowano, że mezenchymalne komórki macierzyste, osadzone na rusztowaniach grafenowych są obiecującym nano-bio-kompleksem w leczeniu ran.

PIV Lasocka Iwona, Szulc-Dąbrowska Lidia, Skibniewski Michał, Skibniewska Ewa, Gregorczyk-Zboroch Karolina, Pasternak Iwona, Hubalek Kalbacova Maria, 2021: Cytocompatibility of Graphene Monolayer and Its Impact on Focal Cell Adhesion, Mitochondrial Morphology and Activity in BALB/3T3 Fibroblasts. *Materials*, 14, 3, 1-16. DOI:10.3390/ma14030643.

Kolejne badania (PIV) prezentują nowatorskie podejście do oceny wpływu monowarstwy grafenu na adhezję komórek, sieć mitochondriów i aktywność fibroblastów BALB/3T3. Metody zostały szczegółowo zaprezentowane i wnikliwie opisane. Wyniki prezentowanych badań nie wykazały różnic w zakresie wielkości komórek BALB/3T3, hodowanych na grafenie w porównaniu do komórek kontrolnych, hodowanych w sposób tradycyjny. Autorzy uzyskali interesujące wyniki wskazujące, że monowarstwa grafenowa, w bezpośrednim kontakcie z komórkami, zwiększała aktywność mitochondriów, a równocześnie nie wykazywała żadnych oznak toksyczności. W tej pracy stwierdzono również, że rusztowania grafenowe są cytokompatybilne z innymi fibroblastami, w tym przypadku linii BALB/3T3, co dostarcza dodatkowych danych na temat przydatności rusztowań grafenowych w terapii tkankowej.

PV Lasocka Iwona, Jastrzębska Elżbieta, Zuchowska Agnieszka, Skibniewska Ewa, Skibniewski Michał, Szulc-Dąbrowska Lidia, Pasternak Iwona, Sitek Jakub, Hubalek Kalbacova Maria, 2022: Graphene 2D platform is safe and cytocompatible for HaCaT cells growing under static and dynamic conditions. *Nanotoxicology*, 16 (5), 610-628. DOI: 10.1080/17435390.2022.2127128.

Efekty oddziaływania platformy grafenowej 2D zbadano z kolejną linią komórkową – HaCaT. Komórki te są często wykorzystywane w badaniach z zastosowaniem modelu skóry. Niemniej jednak, nie badano dotychczas mechanizmów ich interakcji z monowarstwą grafenu. W niniejszej pracy, potencjalny efekt w zakresie gojenia się ran mierzono w makro- i mikroskali oraz przy użyciu systemu „lab on a chip”. Wykazano, że na szkiełkach, pokrytych grafenem błona komórkowa pozostaje nienaruszona. Wykazano także, że nie ma różnic w zakresie liczby komórek apoptotycznych i nekrotycznych w porównaniu do grupy kontrolnej. Co więcej, nie stwierdzono żadnych zmian morfologicznych w obrazie morfologii mitochondriów. Podsumowując, udowodniono, że grafen jako jednowarstwowe rusztowanie jest nietoksyczny dla HaCaT komórek. Na koniec stwierdzono również, że w przyszłych badaniach należy dokładniej zbadać wpływ grafenu na komórki układu odpornościowego.

PVI Lasocka Iwona, Skibniewska Ewa, Skibniewski Michał, Szulc-Dąbrowska Lidia, Jastrzębska Elżbieta, Pasternak Iwona, Sitek Jakub, Hubalek Kalbacova Maria, 2023: Graphene monolayer as an appropriate substrate for mesenchymal stem cells support in regenerative medicine. *Indian Journal of Experimental Biology*, 61, 235-243. DOI: 10.56042/ijeb.v61i04.174.

Najnowsza publikacja (opublikowana w 2023 r.) dotyczy podstawowych zastosowań mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC), hodowanych na rusztowaniu grafenowym. Uwzględnienie MSC w terapiach regeneracyjnych jest jednym z kluczowych wysiłków badawczych, jednak jak wykazali inni autorzy, bezpośrednie dostarczenie MSC do ran może hamować wzrost komórek spowodowany cytotoksycznością płatków grafenu, zawieszonych w pożywce hodowlanej. Jednakże obiecującym rozwiązaniem mogłoby być zastosowanie MSC osadzonych na jednowarstwowym rusztowaniu grafenowym. To nowatorskie podejście zostało zbadane w niniejszej pracy. Wyniki zostały szczegółowo opisane i wnikliwie omówione. Nie wykazano toksyczności warstwy grafenu wobec badanych komórek. Wykazano, że w interakcji z monowarstwą grafenu cytoszkielet MSC był normalnie rozwinięty. Odkrycia Autorów sugerują, że zastosowanie monowarstwy grafenu jako rusztowania dla wybranych komórek może przyspieszyć gojenie się ran.

Zaprezentowane publikacje zostały opatrzone syntetycznym omówieniem, wskazującym cel i zakres osiągnięcia oraz zawierającym omówienie wyników ze wskazaniem ich

komplementarności. Zaprezentowane wyniki odzwierciedlają ustalenia opisane w poszczególnych pracach, lecz łączą je w spójną całość. Dyskusja została podsumowana uzupełniającymi się wnioskami opisanymi w części Wnioski wynikające z badań opisanych w publikacjach zawartych w pracy. Wnioski są kompleksowe, przejrzyste i w sposób syntetyczny przedstawiają kluczowe ustalenia wynikające z badań, stanowiących „Osiągnięcie”. Podsumowując badania, przedstawione w publikacjach, można podkreślić ich nowatorski charakter, a zwłaszcza dotyczący następujących konkluzji;

- Monowarstwa grafenu nie jest toksyczna dla komórek fibroblastów, keratynocytów i mezenchymalnych komórek macierzystych w badaniach in vitro.
- Rusztowanie z monowarstwy grafenu oddziałuje na komórki fibroblastów poprzez zmiany zachodzące w cytoszkielecie i adhezji komórek.
- Monowarstwa grafenu generuje sygnały mechaniczne, które indukują migrację, proliferację i różnicowanie komórek.
- Znaczący wzrost aktywności mitochondrialnej komórek fibroblastów, rosnących na monowarstwie grafenu, prawdopodobnie wynika z transdukcji sygnału.
- Morfologia mitochondriów komórek fibroblastów i keratynocytów rosnących na grafenie była prawidłowa.
- Analiza obrazu mikroskopowego, w zakresie wybarwionych, wybranych struktur białkowych, nie wykazała nieprawidłowości w budowie cytoszkieletu komórek fibroblastów, mezenchymalnych komórek macierzystych i komórek keratynocytów oraz ich zaburzonej adhezji wobec monowarstwy grafenu..
- Monowarstwa grafenu nie opóźnia gojenia się rany w badaniach na komórkach metodą in vitro. Migracja komórek fibroblastów, pod wpływem monowarstwy grafenu była bardziej uporządkowana niż w grupie kontrolnej, co może wpływać na optymalizację gojenia się ran.
- Zastosowanie mikrosystemu pokrytego monowarstwą grafenu (lab on a chip) pozwala w łatwy sposób ocenić reakcję komórek na nanosubstrat oraz modulować adhezję komórek i przebudowę cytoszkieletu.
- Uzyskane wyniki wskazują na brak działania cytotoksycznego monowarstwy grafenu, badane metodą in vitro, co pozwala na zaplanowanie dalszych badań w celu opracowania nowej biomedycznej terapii gojenia się ran skóry.

Działalność naukowa (nie zaliczana do osiągnięcia naukowego).

Pani dr Iwona Lasocka kompleksowo przedstawiła tematykę, zakres i wyniki pozostałych prac badawczych. Monografie naukowe dotyczą środowiskowych i genetycznych uwarunkowań zdrowia ludzi i zwierząt oraz bioindykatorów skażenia pierwiastkami śladowymi. W dalszej części zaprezentowano listę pozostałych artykułów naukowych (nieuwzględnionych w osiągnięciu). Wyniki pozostałych badań publikowane są w czasopismach międzynarodowych i krajowych, skupiających się na biodostępności makro i mikroelementów w żywieniu zwierząt. Kolejnym tematem zainteresowań Kandydatki są badania związane ze wskaźnikami metabolicznymi i zdrowotnymi u szczurów żywionych dietami hipercholesterolemicznymi. Tematykę tę podejmuje Kandydatka także w swojej pracy doktorskiej pt. „Klimakteryjne owoce egzotyczne jako źródło czynników bioaktywnych i ich wpływ na szczury karmione dietą z cholesterolem”. W kolejnych latach głównym przedmiotem jej badań jest biokompatybilność monowarstw grafenu z komórkami zaangażowanymi w gojenie się ran skóry. Kluczowe wyniki są włączone do osiągnięcia naukowego, pozostałe wyniki zostały prezentowane w innych powiązanych publikacjach.

Wyniki badań Kandydatki były publikowane w dobrych czasopismach, a także prezentowane w formie wystąpień ustnych lub plakatowych na licznych konferencjach naukowych w kraju i za granicą.

Udział w projektach badawczych

Pani dr Iwona Lasocka brała udział w projektach NCN lub NCBiR, będąc kierownikiem jednego realizowanego projektu i uczestniczką dwóch.

Odbyte staże polskie i zagraniczne

Kandydatka odbyła staże i szkolenia w polskich i zagranicznych instytucjach badawczych. Sześciomiesięczny staż odbyła w Katedrze Farmakologii Narodowego Instytutu Leków w Warszawie oraz trzymiesięczny staż w Laboratorium Oddziaływania Komórek z Nanomateriałami Uniwersytetu Karola w Pradze. Należy podkreślić, że aktywnie współpracowała z naukowcami z innych jednostek naukowych w kraju i za granicą, czego efektem były liczne artykuły i materiały konferencyjne.

Ocena bibliometryczna

Osiągnięcie naukowe Pani dr Iwony Lasockiej nosi tytuł „Cytokompatybilność monowarstwy grafenu jako rusztowania dla komórek zaangażowanych w procesie gojenia się ran skóry (badania *in vitro*) – projektowane zastosowania w higienie zwierząt” składa się z sześciu artykułów opublikowanych w czasopismach o łącznej liczbie punktów IF 18,359 i MEiN 535.

Podsumowując, dorobek naukowy Kandydatki dokumentuje Jej znaczący rozwój naukowy. Pani dr Lasocka jest pierwszą lub współautorką 24 publikacji, w tym publikacji oryginalnych, przeglądowych i monografii (łącznie IF = 57 978). Według Web of Science Core Collection liczba cytowań wynosi 381, a H-index = 11.

Podsumowanie opinii

Najważniejsze wyniki badań, stanowiących „Osiągnięcie” zostały udokumentowane w formie bardzo dobrych publikacji, szczegółowo opisane i podsumowane, co pozwala na ich bardzo dobrą ocenę, a także stanowi podstawę do dalszych badań podstawowych i stosowanych. Istnieje jednak kilka drobnych uwag. Uwagi mają jedynie charakter dyskusyjny i nie wymagają zmian w ocenie, ale mogą zostać uwzględnione w przyszłych badaniach.

Tytuł osiągnięcia naukowego

„Cytokompatybilność monowarstwy grafenu jako rusztowania dla komórek zaangażowanych w procesie gojenia się ran skóry (badania *in vitro*) – projektowane zastosowania w higienie zwierząt.”

Końcowa część tytułu wskazuje, że wyniki zostaną wykorzystane w higienie zwierząt co byłoby bardzo interesujące. Jest to bardzo ogólne stwierdzenie, zasugerowane w osiągnięciu, można było nieco bardziej rozszerzyć tę myśl w opisie.

Lista skrótów

Wprowadzenie listy skrótów byłoby pomocne w analizie tekstu.

Wnioski

Wniosek 4." Liczba przyczepów ogniskowych w fibroblastach L292 hodowanych na monowarstwie grafenu była większa względem kontroli, a w przypadku fibroblastów Balb3T3 ich liczba była mniejsza, ale powierzchnia pojedynczego przyczepu ogniskowego była większa względem kontroli, co według Dalby i wsp. (2018) świadczy o dojrzałości przyczepu ogniskowego".

Chociaż jest to rozważane w artykułach, ta część nie jest kluczowym wynikiem, ale częścią dyskusji.

Wniosek 9" Takie modulowanie stresorami (naprężenie ścinające i nanotopografia) może pomóc uzyskać komórki o kreślonym fenotypie, oczekiwanym w konkretnym zastosowaniu w medycynie regeneracyjnej".

Rzeczywiście, pytanie pozostaje otwarte i interesujące jest poznanie opinii kandydata na ten temat.

Wniosek 10 „Wyniki uzyskane dzięki niniejszym badaniom pomogą w stworzeniu nowych rozwiązań biomedycznych służącym przyspieszenia procesu leczenia ran skóry u zwierząt zarówno gospodarskich, towarzyszących, użytkowanych sportowo jak i zwierząt egzotycznych oraz możliwych do wykorzystania także w profilaktyce ochrony skóry podczas różnych zabiegów związanych z użytkowaniem zwierząt. Staną się również podstawą do poprawy dobrostanu i zdrowotności zwierząt, wykorzystując najnowsze rozwiązania nanobiotechnologiczne wkraczające w dziedzinę zootechniki.”

Wniosek ten stanowi raczej podsumowanie, zdaniem recenzenta, nie jest to ostateczny wniosek wynikający z badań opisanych w publikacjach, a jedynie ogólne przypuszczenie i wskazanie na przyszłość.

Ostateczna konkluzja podsumowująca

Pani dr Iwona Lasocka w swoich badaniach poruszyła bardzo ważny problem dotyczący biogodności jednowarstwowego rusztowania grafenowego w kompleksie z różnymi komórkami. Praca dostarcza podstawowej, a równocześnie często nowej wiedzy na temat morfologicznych i metabolicznych interakcji między grafenem a komórkami różnych linii, badanymi metodą in vitro. Charakterystyka bio-właściwości grafenu, jako rusztowania dla rozwoju komórek w procesach gojenia ran, została wszechstronnie zbadana, co ukazuje ogromny potencjał tych badań dla rozwoju zootechniki i rybactwa, zwłaszcza w zakresie zoohigieny. Co więcej interdyscyplinarny charakter przeprowadzonych badań wskazuje również na ich wpływ w zakresie rozwoju innych dyscyplin naukowych, w tym medycyny i medycyny weterynaryjnej. Poruszony temat i wnioski uzupełniające są uzasadnione, stanowią solidną i nowatorską podstawę do dalszych badań podstawowych i stosowanych. Osiągnięcie naukowe, udokumentowane w sześciu publikacjach naukowych, opublikowanych w renomowanych czasopismach, stanowi spójną i logiczną całość. Zaangażowanie Kandydatki w badania jest wyróżniające. Tematyka badań i metodologia zastosowana w badaniach reprezentują wysoki, międzynarodowy poziom.

Na podstawie analizy dokumentów, stanowiących dorobek naukowy w zakresie „Osiągnięcia” przedstawionego w serii publikacji oraz ogólnej działalności naukowej, w tym dorobek

dydaktyczny i organizacyjny, stwierdzam, że ocena dorobku naukowego Pani dr Iwony Lasockiej ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (dr hab.) jest pozytywna i spełnia wymagania określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r., poz. 742).

