

Warszawa, 25.04.2016

Prof. dr hab. Tomasz Kowalewski
IPPT PAN, Warszawa
Zakład Mechaniki i Fizyki Płynów

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr Izabeli Kamińskiej nt.
*„Nanostruktury tlenkowe domieszkowane lantanowcami lub metalami
przejściowymi do obrazowania biomedycznego”*
wykonana na zlecenie Rady Naukowej Instytutu Fizyki PAN w Warszawie

Charakterystyka pracy

Praca doktorska mgr Izabeli Kamińskiej została wykonana w Instytucie Fizyki PAN pod opieką promotora profesora Danka Elbauma i promotora pomocniczego dr Krzysztofa Fronca. Od 8 lat zespół promotora zajmuje się wytworzeniem nowej generacji materiałów opto-magnetycznych, które są opracowywane z myślą o zastosowaniach w hipertermii, obrazowaniu rezonansem magnetycznym (MRI) oraz w terapii fotodynamicznej.

Praca doktorska magister Kamińskiej jest jedną z trzech prac doktorskich wykonanych w tym laboratorium, w ramach projektu naukowego POIG pt. „Kwantowe nanostruktury półprzewodnikowe do zastosowań w biologii i medycynie - rozwój i komercjalizacja nowej generacji urządzeń diagnostyki molekularnej opartych o nowe polskie przyrządy półprzewodnikowe”. W swoich badaniach Doktorantka korzystała również ze struktur aparaturowych Centrum Inżynierii Biomedycznej. W 2013 roku otrzymała stypendium Marszałka Województwa Mazowieckiego w ramach konkursu Rozwój nauki – rozwojem regionu — stypendia i wsparcie towarzyszące dla mazowieckich doktorantów.

Tematyka pracy dotyczy bardzo aktualnego problemu w diagnostyce biomedycznej, jakim jest stworzenie możliwie bezinwazyjnych metod wykrywania i terapii zmian nowotworowych. Ideą przewodnią pracy jest wykorzystanie w tym celu nanocząstek zbudowanych na bazie minerałów grupy tlenków glinu i cynku domieszkowanych jonami lantanowców, głównie erbu i iterbu. Głównym argumentem takiego wyboru jest z jednej strony możliwość wykorzystania tzw. up-konwersji, umożliwiającej

wzbudzenie luminescencji materiału nanocząstki łatwiej penetrującym w głąb tkanek promieniowaniem podczerwonym, a z drugiej strony przez dodatek paramagnetyku wykorzystanie tych samych nanocząstek do niszczenia komórek nowotworowych metodą hipertermii. Pewną wskazówką dla takiego wyboru materiału nanocząstek były zarówno istniejące już doniesienia literaturowe jak i wcześniejsze badania prowadzone w zespole, m.in. przez poprzednią doktorantkę obecnego promotora, dr Bożenę Sikorę. Należy jednak zaznaczyć, że przedstawione w recenzowanej pracy badania znacznie wykraczają poza zakres przeprowadzonych wtedy prac wstępnych, gdzie jedynie zasygnalizowano możliwości wykorzystania up-konwersji dla wzbudzania nanocząstek ZnO w pasmie UV.

Praca liczy 229 stron, jest bogato ilustrowana wykresami i zdjęciami mikroskopowymi. Formalnie praca jest podzielona na 9 rozdziałów, z których pierwsze pięć stanowi opis przeprowadzonych prac doświadczalnych, a pozostałe rozdziały zawierają szczegóły dotyczące stosowanych metod, prezentację osiągnięć doktorantki jak i bogate dane bibliograficzne (179 pozycji).

Podstawowy cel pracy został zdefiniowany na wstępie. Jest nim opracowanie technologii otrzymywania bioznaczników luminescencyjnych, których istotną cechą jest możliwość świecenia w pasmie widzialnym poprzez wzbudzenie niskoenergetycznym promieniowaniem bliskiej podczerwieni. W miarę zagłębiania się w treść rozprawy przekonujemy się, że ten cel nie tylko został zrealizowany, ale praca dotyczy wielowątkowych badań różnych kompozycji materiałów nanocząstek (nie zawsze zresztą zakończone sukcesem), obejmujących kilka technologii ich wytwarzania, różnorakie metody charakteryzacji własności fizycznych, materiałowych i strukturalnych wytwarzanych nanomateriałów jak i badania biologiczne biogodności powstałego materiału.

Wybranymi do badań materiałami są matryce tlenkowe, których wysokie energie fononów pozwalają na uzyskanie czerwonej luminescencji up-konwersji. Na tej podstawie postawiono wstępną hipotezę roboczą, która stwierdza, że poprzez wybór matrycy, odpowiednie dobranie warunków technologicznych przy wytwarzaniu nanocząstek można wpłynąć na kolor emisji oraz wydajność up-konwersji jonów ziem rzadkich w bioznacznikach. Jako matrycę wybrano spinel cynkowo-glinowy oraz najbardziej wydajną parę jonów up-konwertujących ziem rzadkich, jakimi są Er^{3+} i Yb^{3+} . Uzyskano nanocząstki z silną emisją promieniowania czerwonego. W celu zwiększenia wydajności up-konwersji przy zachowaniu emisji w pożądanym zakresie spektralnym, Doktorantka

stopniowo zamieniała lekkie jony glinu ciężkimi jonami gadolinu, aby zmniejszać energię fononów matrycy i uzyskać, dotąd niesygnalizowany w literaturze, spinel cynkowo - glinowo – gadolinowy. Dodatkowo, wprowadzenie do matrycy cynkowo-glinowej jonów gadolinu pozwoliło na uzyskanie nano-cząstek paramagnetycznych. Wprawdzie stosując metodę spalania doktorantce nie udało się wytworzyć spinelu cynkowo - glinowo – gadolinowego, ale uzyskiwała wielofazowe nanoproszki, w których wydajność up-konwersji rosła wraz z zawartością gadolinu. Potwierdziło to przyjęte założenia. Doktorantka przeprowadziła dokładną analizę wpływu ilości gadolinu na skład fazowy wytwarzanych nanoproszków i wydajność luminescencji. Przy stuprocentowej zamianie jonów glinu, jonami gadolinu autorka uzyskała nano-cząstki tlenku gadolinu domieszkowanego erbem, iterbem oraz cynkiem, które charakteryzują się czerwoną luminescencją oraz wysoką wydajnością kwantową up-konwersji (trzy rzędy wielkości większą niż w spinelu cynkowo-glinowym). Wynik ten oraz bardzo wydajna up-konwersja był motywacją do zbadania wpływu domieszkowania jonami cynku nanocząstek tlenku gadolinu na wydajność kwantową up-konwersji. Kolejnym istotnym krokiem była modyfikacja przez doktorantkę procesu syntezy w poszukiwaniu wysokowydajnych i niezagregowanych nanocząstek tlenkowych oraz sprawdzenie innego mechanizmu up-konwersji z udziałem erbu i dimeru iterbowo-molibdenowego, który może wpłynąć na zwiększenie wydajności kwantowej up-konwersji. Do syntezy tych nanocząstek zaproponowała strącanie produktu przez stopniowe wkraplanie reduktora (mocznika) do roztworu utleniaczy. Pozwoliło to na wytworzenie regularnych, sferycznych, paramagnetycznych nanocząstek o gładkiej powierzchni, małej dyspersji wymiaru i stosunkowo wysokiej wydajności luminescencji. W badaniach z udziałem erbu i dimeru iterbowo-molibdenowego Doktorantka nie uzyskała wprawdzie oczekiwanego wzrostu wydajności kwantowej dla czerwonej luminescencji, ale zaobserwowała istotny wzrost luminescencji zielonej, co rodzi nowe możliwości aplikacyjne dla tych nanocząstek. Otrzymane w tych badaniach nanocząstki znalazły zastosowanie w obrazowaniu komórek i jak wykazano nie wykazują one cytotoksyczności.

Olbrzymi materiał doświadczalny zgromadzony w trakcie stosunkowo krótkiego, bo czteroletniego okresu realizacji pracy doktorskiej, jest imponujący i zasługuje na wyróżnienie nie tylko z uwagi na jego wartość poznawczą, ale również systematyczność i precyzję dokumentacji prowadzonych badań. Praca jest przygotowana bardzo starannie pod względem edytorskim, zarówno tekst jak i rysunki nie zawierają istotnych błędów. Niektóre jej fragmenty oraz przyjęty styl wymagają jednak zmiany

przed ewentualnym opublikowaniem tej pracy w formie monografii. Kilka szczegółowych uwag, zamieszczono poniżej:

- Streszczenia pracy w języku polskim i angielskim nie stanowią integralnej części pracy.
- Na wstępie pracy przydałyby się definicje podstawowych oznaczeń występujących później, definicji związków chemicznych. Ułatwiłoby to rozszyfrowywanie występujących skrótów.
- Razi użycie kilku rysunków, jako reprodukcji z innych prac, często niskiej jakości, z trudnymi do odczytania oznaczeniami (rys. 2, 6, 20) lub o podręcznikowym charakterze a zaczerpniętych z innej publikacji (np. rys. 84).
- Struktura pracy przypomina raczej raport laboratoryjny niż typową monografię doktorską. W dodatku masowe wytluszczenie fragmentów tekstu i duża liczba odsyłaczy do innych części pracy raczej utrudniają jego percepcję. Trudno śledzić myśl przewodnią tekstu wielokrotnie przerywanego odniesieniem z innych rozdziałów. Czasami są to nieistotne odniesienia i można byłoby je zbyć ogólnikiem, czasami istotne i wtedy dobrze byłoby zaznaczyć, przynajmniej w zarysie, co znajdziemy przekartkowując w przód i wstecz cały manuskrypt.
- Kolejne rozdziały pracy polegają na opisie wyników otrzymanych w wyniku modyfikacji metody lub użytego związku chemicznego. Takie zmiany są zrozumiałe dla badacza prowadzącego systematyczne prace w laboratorium, czytelnik niestety nie widzi drogi, która prowadziła do konieczności prowadzenia kolejnych badań w innych warunkach. Często brakuje łączników myśli przewodniej, wprowadzić można się ich domyślać czytając konkluzje – ale moim zdaniem to nie wystarcza.
- Brakuje wyraźnego oddzielenia części merytorycznej od opisu metod i aparatury. Moim zdaniem praca powinna kończyć się podsumowaniem (rozdział 5), a pozostałe części mogłyby stanowić elementy istniejącego Dodatku.
- Z edytorskich mankamentów to też nadużywanie „slangu” laboratoryjnego: szerokoprzerwowa matryca, szerokoprzerwowy półprzewodnik, dominacja hamiltonianu, fotony pompy, widoczne gołym okiem, raportowali – to tylko kilka przykładów.
- Niektóre pozycje literaturowe nie zawierają pełnej informacji bibliograficznej (np. 1, 170, 179).
- Niektóre wzory nie mają pełnej informacji (np. 1 str. 23, 2 str. 154).
- Niektóre informacje podręcznikowe umieszczone na końcu pracy można uznać za zbędne, tym bardziej, że skrótowy sposób ich

prezentacji czasem powoduje raczej zamieszanie (np. pkt. 7.2.1 – błędne wzory, błędna informacja o SQUID – został zakupiony a nie, jak podano w pracy, zbudowany w IF PAN).

- Trochę na wyrost, moim zdaniem, jest używane stwierdzenie o braku bio-toksyczności wytworzonych nanomateriałów. Krótki czas eksperymentów (48 godzin), zbadanie jedynie globalnych efektów (apoptoza komórki), pozwalają ewentualnie stwierdzić stosunkowo małą (ew. powolną) toksyczność materiału. Zmiany, jakie mogą pojawić się w komórkach wskutek ich oddziaływań z nanomateriałami są od ponad 20 lat przedmiotem wielu badań i jak dotąd prezentowane opinie są nadal niejednoznaczne. Tak pewnie jest też z wytworzonym materiałem, dopiero wieloletnie testy na żywych organizmach mogą wskazać czy jest to bezpieczny dla pacjenta środek diagnostyki i terapii.

Ocena pracy

Jest to oryginalna i wartościowa praca, bogato ilustrowana wykresami i rysunkami, uzupełniona pełną dokumentacją stosowanych metod doświadczalnych jak i ich podstaw fizycznych. Na podstawie przedłożonej pracy recenzent może uznać, że Doktorantka potrafiła samodzielnie rozwiązać oryginalny problem naukowy i przedstawić oryginalną pracę naukową, wskazującą na możliwość wykorzystania współczesnych narzędzi badawczych dla skonstruowania nano materiałów o założonych własnościach fizycznych i chemicznych oraz potrafiła wyjaśnić zjawiska fizyczne towarzyszące poszczególnym etapom prowadzonych prac nad syntezą tych materiałów.

Podstawowym celem ocenianej pracy doktorskiej było opracowanie technologii otrzymywania i charakteryzacja bio-znaczników luminescencyjnych opartych na nano-cząstkach tlenkowych domieszkowanych ziemiemi rzadkimi, metalami przejściowymi lub metalami alkalicznymi pozwalających na obrazowanie optyczne i magnetyczne komórek nowotworowych. Doktorantka z powodzeniem wypełniła postawione przed sobą zadanie. W drodze licznych prób laboratoryjnych opracowała technologię wytwarzania bio-znaczników wzbudzanych bliską podczerwienią i emitujących światło tylko w kolorze czerwonym, dzięki czemu w bio-obrazowaniu uzyskała silny wzrost sygnału w stosunku do szumu.

Najważniejszym osiągnięciem autorki było wytworzenie znaczników luminescencyjnych opartych na tlenkach gadolinu domieszkowanych jonami erbu, iterbu i cynku ($Gd_2O_3: Er^{3+}, Yb^{3+}, Zn^{2+}$), znalezienie optymalnej wartości domieszki cynku pozwalającej na wydajną „czerwoną” emisję up-konwersji i zaproponowanie mechanizmu odpowiedzialnego za zaobserwowane bardzo silne wzmocnienie up-konwersji w obecności jonów Zn^{2+} w matrycy Gd_2O_3 . Doktorantka pokazała również, że wytworzone znaczniki wnikają do komórek nowotworowych oraz astrocytów na drodze endocytozy nie powodując ich apoptozy.

Praca doktorska w załączniku zawiera szczegółową dokumentację osiągnięć doktorantki. Na tej podstawie recenzent może stwierdzić, że sposób wytwarzania opracowanych przez doktorantkę nano-znaczników został w 2012 roku opatentowany. Jej dotychczasowy dorobek naukowy składa się z 9 publikacji w wysoko punktowanych czasopismach. Wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej zostały wcześniej opublikowane w 2 czasopismach o zasięgu międzynarodowym (*Royal Society of Chemistry Advances*, IF = 3,84) oraz zostały wielokrotnie nagrodzone i wyróżnione. Doktorantka przedstawiła osobiście wyniki swojej pracy na 18 konferencjach naukowych w tym na 4 międzynarodowych. Na konferencji *European Materials Research Society (EMRS)* wystąpiła z referatem zaproszonym. Jak również jest współautorką 24 innych prezentacji konferencyjnych.

Zastosowane metody i zakres przeprowadzonych badań świadczą o bardzo dobrym opanowaniu przez doktorantkę zarówno technik eksperymentalnych jak i metod analizy otrzymanych rezultatów pomiarów. Wyniki przedstawione w rozprawie pozwalają recenzentowi na stwierdzenie, iż **recenzowana praca spełnia zawarte w Ustawie o Tytule i Stopniach Naukowych wymogi stawiane pracom doktorskim w dyscyplinie naukowej fizyka.**

Wobec powyższego stawiam wniosek o przyjęcie przez Radę Naukową rozprawy doktorskiej „*Nanostruktury tlenkowe domieszkowane lantanowcami lub metalami przejściowymi do obrazowania biomedycznego*” i dopuszczenie Pani mgr Izy Kamińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

6.....

Przedstawiona praca doktorska zawiera niewątpliwie bardzo wartościowy materiał poznawczy, ma duży potencjał aplikacyjny i znacznie poszerza wiedzę dotyczącą zjawisk związanych ze zjawiskami fizycznymi odpowiedzialnymi za wzbudzenie up-konwersji w nanomateriałach tlenkowych domieszkowanych jonami lantanowców. **Biorąc pod uwagę zakres przeprowadzonych badań, ich aktualność potwierdzoną wartościowymi publikacjami, uzyskane dyplomy i patent, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.**



- Prof. dr hab. T. A. Kowalewski -