



Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

Kielce 29.11.2018

dr hab. Dariusz Banaś
Wydział Matematyczno-Przyrodniczy
Instytut Fizyki
Zakład Fizyki Atomowej
e-mail: d.banas@ujk.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Drózdź zatytułowanej
*“Wykorzystanie zaawansowanych metod spektroskopowych do badania wpływu
nanocząstek tlenków żelaza na organizmy żywe”*

Rozprawa została zrealizowana pod kierunkiem promotorki dr hab. inż. Joanny Chwiej i promotorki pomocniczej dr inż. Katarzyny Matusiak. Treść pracy odpowiada tematowi określone w tytule. Rozprawa ma charakter eksperymentalny. W pracy autorka wykorzystuje i ocenia przydatność metody rentgenowskiej analizy fluorescencyjnej z całkowitym odbiciem wiązki padającej (TXRF) oraz metody mikrospektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera (FTIRM) do badania wpływu nanocząstek żelaza na organizmy żywe. Temat podjęty przez Autorkę jest bardzo aktualny i interesujący naukowo, zarówno z poznawczego (badanie właściwości nanocząstek), jak i praktycznego punktu widzenia (rozwój nowoczesnych metod badania struktury materii oraz wykorzystanie nanocząstek w medycynie).

Praca została zredagowana w języku polskim i obejmuje 137 stron maszynopisu. Jest podzielona na 12 rozdziałów. Przy czym 7 pierwszych rozdziałów stanowi właściwą treść pracy. Ta część składa się ze wstępu, rozdziału 2 definiującego cele i zakres pracy, rozdziału 3 opisującego aktualny stan wiedzy na temat nanocząstek tlenków żelaza, rozdziału 4 w którym omówiony został materiał badawczy oraz rozdziału 5 zawierającego opis wykorzystanych technik eksperymentalnych. W obszernym rozdziale 6 Autorka prezentuje i dyskutuje najważniejsze wyniki swoich badań. Pracę kończy podsumowanie. Bibliografia jest bardzo obszerna i liczy 242 pozycje literaturowe.

We wstępie Autorka dokonuje przeglądu literatury i bardzo szczegółowo opisuje własności nanocząstek oraz ich możliwe zastosowania praktyczne, ze szczególnym uwzględnieniem ich potencjalnie toksycznego wpływu na organizmy żywe, jak również,

związanych z tym wpływem możliwych ograniczeń w rozwoju nowoczesnych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Argumentuje również, że fizyczne metody analizy składu pierwiastkowego oraz struktury cząsteczek mogą być bardzo użyteczne przy określaniu zmian zachodzących w tkankach organizmów poddanych działaniu nanocząstek. W mojej opinii metody analityczne wykorzystane w pracy (TXRF i FTIRM) powinny być tutaj omówione bardziej szczegółowo z uwzględnieniem krótkiego przeglądu literatury w tej tematyce.

W drugim jednostronicowym rozdziale Autorka formułuje główne cele pracy doktorskiej oraz definiuje zakres zagadnień, które będą w niej dyskutowane.

Obszerny trzeci rozdział Doktorantka poświęca omówieniu aktualnego stanu wiedzy na temat własności, toksyczności i wykorzystania nanocząstek tlenków żelaza (IONP). Dyskutuje szczegółowo badania dotyczące zastosowań supermagnetycznych nanocząstek tlenków żelaza (SPION) oraz związków (PEG, D-mannitol) stosowanych dla zapewnienia ich biokompatybilności. Omawia farmakokinetykę, biodystrybucję i metabolizm nanocząstek tlenków żelaza w organizmie żywym, ich potencjalną toksyczność oraz zastosowania w magnetycznej hipertermii, obrazowaniu magnetyczno-rezonansowym z wykorzystaniem kontrastów magnetycznych i terapiach celowych z zastosowaniem leków na bazie SPION.

W rozdziale czwartym Autorka podaje szereg informacji dotyczących materiału badawczego wykorzystanego do analiz, w tym: specyfikację stosowanych nanocząstek, procedurę przygotowania roztworów nanocząstek, charakterystykę zwierząt eksperymentalnych i uzasadnienie wyboru narządów oraz procedury ich pobierania. W dalszej części tego rozdziału omawia również metodykę przygotowania próbek do pomiaru metodami TXRF i FTIRM.

W rozdziale 5 Doktorantka omawia metody badawcze wykorzystane w pracy. W mojej opinii rozdział ten jest bardzo dobrze napisany. Zagadnienia fizyczne i (czasami) skomplikowane zagadnienia techniczne dotyczące budowy urządzeń do analizy TXRF i FTIRM zostały omówione w sposób przejrzysty i wyczerpujący w oparciu o obszerny spis literatury. Przykłady zastosowań wykorzystanych w pracy metod w pełni uzasadniają ich wybór. Wszystkie procedury konieczne do uzyskania wiarygodnych wyników zostały szczegółowo udokumentowane i opisane w sposób nie budzący żadnych wątpliwości, co do rzetelności ich wykonania. Test *U* Manna-Whitneya wykorzystany do analizy statystycznej istotności różnic wyników pomiędzy badanymi grupami eksperymentalnymi został dobrany trafnie. W moim przekonaniu rozdział ten świadczy o bardzo dobrym zrozumieniu przez Doktorantkę zjawisk i praw fizycznych będących podstawą metod TXRF i FTIRM oraz możliwości i ograniczeń analitycznych obu metod.

Wyniki przeprowadzonych pomiarów Autorka prezentuje w rozdziale 6. Badania przeprowadzono przy użyciu spektrometru TXRF Picofox S2 w akredytowanym laboratorium LMR UJK oraz spektrometru Agilent Cary 600 na linii SMIS ośrodka synchrotronowego SOLEIL w Saint Aubin. Zastosowanie spektroskopii TXRF umożliwiło ocenę zmian w zawartości Fe, Cu, Ca i Zn w narządach pobranych od zwierząt poddanych działaniu PEG-IONP i M-IONP oraz grupy kontrolnej. Dodatkowo przeprowadzono analizę stężenia Cu w surowicy pozyskanej od zwierząt ze wszystkich grup eksperymentalnych. Z wykorzystaniem metody TXRF Doktorantka wykazała, że dożylnie podanie nawet niewielkich dawek nanocząstek tlenków żelaza może prowadzić do istotnych zmian w zawartości Fe, Cu, Ca i Zn w analizowanych narządach w przypadku obu zastosowanych NP. Ocena zmian w poziomie Fe

umożliwiła natomiast określenie biodystrybucji i farmakokinetyki NP w organizmach zwierząt eksperymentalnych. Zastosowanie metody FTIRM umożliwiło wykrycie zmian w zawartości i strukturze głównych makromolekuł biologicznych w badanych narządach. Analiza FTIRM wykazała, między innymi, zmiany zawartości białek i lipidów w wątrobie i nerkach po podaniu M-IONP. W mojej opinii, w tym rozdziale Autorka zbyt szczegółowo omawia zagadnienia biomedyczne, zaniedbując dyskusję aspektów fizycznych, zalet i wad stosowanych metod analitycznych.

Pracę kończy podsumowanie w którym Autorka omawia najważniejsze wyniki swoich badań, komentuje przydatność zastosowanych metod oraz planuje przyszłe badania z wykorzystaniem technik spektroskopowych.

Do pracy dołączono materiały dodatkowe w formie tabel, w których zebrano informacje na temat uzyskanych w pracy granic detekcji, precyzji, powtarzalności i poprawności metody TXRF oraz zakresy mapowanych pasm absorpcyjnych, stosunków intensywności oraz linii bazowych dla metody FTIRM. W mojej opinii tabele te wraz z dyskusją powinny zostać umieszczone w rozdziale 6. W materiałach dodatkowych załączono również, w formie tabel, wyniki analizy statystycznej.

Do pracy dołączono szczegółowy opis dorobku naukowego Doktorantki. Doktorantka jest współautorką 9 publikacji z listy JCR (w dwóch jest pierwszym autorem). Prezentowała swoje wyniki w formie referatów i posterów na seminariach, konferencjach krajowych i międzynarodowych. Uczestniczyła również w realizacji czterech grantów dziekańskich oraz grantu NCN.

Praca została przygotowana bardzo starannie. Treści zostały przedstawione w sposób czytelny i jasny. Definicje, zależności i wzory, niezbędne przy opisie prezentowanych badań przytoczone są w sposób merytorycznie poprawny. Rysunki są przejrzyste i profesjonalnie przygotowane. Źródła literaturowe zostały dobrane i wykorzystane prawidłowo. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki wnoszą istotny wkład w dotychczasową wiedzę na temat własności nanocząstek tlenków żelaza oraz ich oddziaływania na organizmy żywe. Ponadto Doktorantka opracowała niezbędne procedury analityczne i wykazała przydatność metod rentgenowskiej analizy fluorescencyjnej z całkowitym odbiciem wiązki padającej (TXRF) oraz mikrospektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera (FTIRM) do analizy krótko- i długofalowych zmian pierwiastkowych i biochemicznych wywołanych przez nanocząstki.

Podsumowując, w mojej opinii, Doktorantka wykazała się dużą wiedzą teoretyczną w zakresie wykorzystanych w pracy metod spektroskopowych, umiejętnością analizowania wyników i formułowania wniosków, a przedłożona rozprawa doktorska, ze względu na wartości naukowe, znaczenie poznawcze i aplikacyjne spełnia wszystkie wymagania ustawowe stawiane rozprawom doktorskim. W związku z tym wnoszę o jej przyjęcie oraz dopuszczenie Pani mgr inż. Agnieszki Drózdź do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dariusz Banaś

