



Poznań, 19.11.2023

Prof. UAM dr hab. inż. Jakub D. Rybka, MBA  
Z-Ca Dyrektora ds. naukowych - biotechnologia  
Centrum Zaawansowanych Technologii  
UAM

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr Nicole Nowak

**pt. „Otrzymywanie oraz badanie kompozytów na bazie nanokrystalicznych apatytów domieszkowanych biologicznie aktywnymi jonami przeznaczonych do wypełnień ubytków tkankowych oraz regeneracji tkanek.”**

przygotowane pod kierunkiem naukowym  
promotora prof. dr hab. Rafała J. Wigłusza

#### 1. Podstawa formalna recenzji

Podstawą opracowania recenzji jest pismo Dyrektora Instytutu Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN we Wrocławiu (L.dz. 3194/SDN/2023) z dnia 18.09.2023, w oparciu o uchwałę Rady Naukowej INTIBS PAN z dnia 16 czerwca 2023r.

#### 2. Cel i zakres pracy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Nicole Nowak została zrealizowana w Instytucie Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. Włodzimierza Trzebiatowskiego, Polskiej Akademii Nauk. Pracę wykonano pod kierunkiem Pana **prof. dr hab. Rafała Wigłusza**, uznanego specjalisty w zakresie nanochemii (szczególnie nanocząstek oraz nanokompozytów).

Celem przedstawionej pracy doktorskiej było **opracowanie, uzyskanie i charakteryzacja innowacyjnych biokompozytów opartych na syntetycznych nanorozmiarowych apatytach fosforanowo-wanadowych**. Biokompozyty te mają potencjalne zastosowanie w medycynie regeneracyjnej i inżynierii tkankowej, zwłaszcza w procesie odbudowy uszkodzeń kostnych i towarzyszących tkanek.

Struktura apatyty stanowiła bazę dla stworzenia nieorganicznych rusztowań, które pełnią rolę aktywnych biologicznie kompozytów. Wykorzystano syntetyczny apatyt jako matrycę do kontrolowanego uwalniania biologicznie aktywnych jonów, co umożliwiła stopniową regenerację komórek i tkanek. Jony  $\text{Eu}^{3+}$  zostały wprowadzone jako domieszka optycznie aktywna, wykorzystywana do celów bioobrazowania, zwłaszcza w badaniach *in vitro*, a także jako nośniki leków z możliwością monitorowania uwalniania substancji aktywnej w czasie. Wprowadzenie biologicznie aktywnych pierwiastków, takich jak stront, wanad czy rubid, miało na celu poprawę właściwości biologicznych syntetycznego materiału, wpływając korzystnie na jego biogodność tkankową.

Doktorantka skoncentrowała się na uzyskaniu nanometrycznych związków o strukturze apatyty, domieszkowanych jonami lantanowców  $\text{Eu}^{3+}$  i  $\text{Tb}^{3+}$ , a także jonami biologicznie aktywnymi, takimi jak  $\text{Sr}^{3+}$ ,  $\text{V}^{5+}$  oraz  $\text{Rb}^{+}$ . Zastosowane materiały zostały szczegółowo zbadane pod kątem ich właściwości fizykochemicznych i biologicznych.

### 3. Ocena układu rozprawy doktorskiej

Praca została złożona w ramach spójnego tematycznie cyklu artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych. Dysertacja składa się z 125 stron i obejmuje następujące sekcje: życiorys naukowy autorki, wstęp (a w nim cel pracy oraz opis literatury i metod), prezentacja wyników badań (w postaci cyklu 3 artykułów naukowych), wnioski i podsumowania, streszczenie, summary w języku angielskim oraz bibliografia. Praca napisana jest w języku polskim, załączone publikacje w języku angielskim.

**Pracę autorka dysertacji zadedykowała sobie.**

### 4. Ocena merytoryczna pracy:

Rozprawa doktorska pani Nicole Nowak została złożona jako cykl trzech artykułów, wszystkich w czasopiśmie *Nanomaterials* (ISSN: 2079-4991; IF: 5,4). **Wybór wydawnictwa i czasopisma, budzącego spore kontrowersje w świecie naukowym jest zastanawiający. Co kierowało doktorantką i jej promotorem w takim a nie innym wyborze?** Biorąc pod uwagę oświadczenia załączone do pracy udział doktorantki w powstaniu artykułów był zdecydowanie wiodący. Nie budzi to zastrzeżeń.

Wstęp w postaci opisu literatury jest kompletny i pozwala zapoznać się z tematyką przedstawionej pracy doktorskiej. Po nim następuje ciekawy opis wykorzystywanych metod do oceny właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych.

Pierwsza praca wchodząca w cykl artykułów “A study of vanadate group substitution into nanosized hydroxyapatite doped with  $\text{Eu}^{3+}$  ion as a potential tissue replacement material” autorstwa Nicole Nowak oraz Rafała Jakuba Wiglusza opublikowana została w 2021 r. Jak można zauważyć na stronie [https://www.mdpi.com/2079-4991/12/1/77/review\\_report](https://www.mdpi.com/2079-4991/12/1/77/review_report) przeszła już proces recenzencki.

Praca skupia się na innowacyjnym podejściu do opracowania biokompozytów z wykorzystaniem nanorozmiarowych apatytów fosforanowo-wanadowych domieszkowanych jonami  $\text{Eu}^{3+}$ . Głównym celem było zastąpienie grupy fosforanowej grupą wanadanową w strukturze hydroksyapatytu, co potencjalnie wpływa na poprawę biokompatybilności tych materiałów.

Autorzy przeprowadzili obszerne badania fizykochemiczne i biologiczne, korzystając z różnorodnych technik analizy, takich jak dyfrakcja rentgenowska, mikroskopia elektronowa, spektroskopia FTIR, ICP-OES oraz spektroskopia fotoluminescencyjna. Wyniki tych badań ukierunkowane były na zrozumienie wpływu grup wanadanowych na strukturę krystaliczną hydroksyapatytu, a także na właściwości luminescencyjne jonów  $\text{Eu}^{3+}$  w tej strukturze, które mogą być wykorzystane w bioobrazowaniu.

Zastosowano innowacyjne podejście do projektowania związków, otrzymując dwie serie nano-rozmiarowych materiałów. Oceniono wpływ stopniowego zastępowania grupy fosforanowej grupą wanadanową na strukturę krystaliczną i właściwości luminescencyjne.

Dodatkowo, autorzy przeprowadzili badania biokompatybilności, wykazując, że otrzymane materiały są hemokompatybilne i nie wykazują toksyczności wobec komórek. Testy uwalniania jonów do środowiska zewnętrznego sugerują potencjalne zastosowanie tych materiałów jako wypełniaczy tkankowych w medycynie regeneracyjnej. **Proszę o wytłumaczenie testu hemolitycznego wraz z omówieniem wyników przedstawionych w publikacji.**

Warto podkreślić, że prezentowane wyniki zostały potwierdzone różnymi metodami badawczymi, co zwiększa wiarygodność uzyskanych danych. Materiały dodatkowe dostarczają dodatkowych informacji, a zastosowanie metody Rietvelda umożliwia precyzyjną analizę struktury krystalicznej.

Podsumowując, praca jest wartościowym wkładem w dziedzinę biomateriałów, przedstawiając nowatorskie podejście do modyfikacji hydroksyapatytu w celu poprawy jego potencjalnego zastosowania w regeneracji tkankowej.

Drugi artykuł “Synthesis and investigation of physicochemical properties and biocompatibility of Tb<sup>3+</sup> and Sr<sup>2+</sup> ions co-doped phosphate-vanadate hydroxyapatite” autorstwa Natalii Charczuk, Nicole Nowak oraz Rafała Jakuba Wiglusza opublikowano w 2023 roku. Podobnie jak w przypadku pierwszej pracy, proces recenzencki jest jawny i dostępny na stronie [https://www.mdpi.com/2079-4991/13/3/457/review\\_report](https://www.mdpi.com/2079-4991/13/3/457/review_report)

Praca skupia się na syntezie oraz charakterystyce nowych materiałów o strukturze hydroksyapatytu, współdomieszkowanych jonami Tb<sup>3+</sup> i Sr<sup>2+</sup> z podstawionymi dwoma grupami wanadanowymi, mających potencjał zastosowania w dziedzinie biomateriałów. Autorzy podejmują wyzwanie zastąpienia grupy fosforanowej dwiema grupami wanadanowymi, co ma potencjalnie wpływać na regenerację tkanki kostnej. Dodatkowo, wprowadzenie jonów Tb<sup>3+</sup> i Sr<sup>2+</sup> stanowi ciekawe uzupełnienie ze względu na ich korzystny wpływ na procesy regeneracyjne i biogodność tkankową.

W ramach pracy zastosowano hydrotermalną metodę syntezy, a następnie przeprowadzono analizy strukturalne, morfologiczne oraz luminescencyjne. Dodatkowo, przeprowadzono testy biologiczne mające na celu ocenę kompatybilności materiałów z żywymi komórkami.

Rentgenowskie dyfraktogramy potwierdziły otrzymanie heksagonalnej struktury hydroksyapatytu. Obróbka termiczna wpłynęła na wzrost krystaliczności materiałów.

Testy biologiczne potwierdziły wysoką biokompatybilność materiałów z żywymi komórkami, co stanowi istotny aspekt przy ocenie ich potencjalnego zastosowania w medycynie regeneracyjnej.

Podsumowując, praca przedstawia interesujące podejście do modyfikacji struktury hydroksyapatytu z wykorzystaniem jonów Tb<sup>3+</sup> i Sr<sup>2+</sup>, współdomieszkowanych z grupami wanadanowymi. Materiały wykazują obiecujące właściwości strukturalne, luminescencyjne oraz biologiczne, co sprawia, że potencjalnie mogą być zastosowane w bioobrazowaniu i medycynie regeneracyjnej.

Ostatni z artykułów pt” Structural, spectroscopic, and biological characterization of novel rubidium(I) and europium(III) co-doped nano-hydroxyapatite materials and their potential use in regenerative medicine” autorstwa Nicole Nowak, Dominiki Czekanowskiej, John M. Reeks’a oraz Rafała Jakuba Wiglusza opublikowany został w

2022 roku. Proces recenzji przedstawiony jest na stronie [https://www.mdpi.com/2079-4991/12/24/4475/review\\_report](https://www.mdpi.com/2079-4991/12/24/4475/review_report)

W pracy przedstawiono problem badawczy związany z syntezą oraz charakterystyką nanomateriałów opartych na strukturze hydroksyapatytu, domieszkowanych jonami  $\text{Eu}^{3+}$  oraz współdomieszkowanych jonami  $\text{Rb}^{+}$ . Wybór tematu jest spójny oraz uzasadniony ze względu na potencjalne zastosowania tych materiałów w dziedzinie bioobrazowania, medycyny regeneracyjnej i inżynierii tkankowej.

Hydroksyapatyty, jako materiały nieorganiczne powszechnie występujące w przyrodzie, odgrywają kluczową rolę w funkcjonowaniu i metabolizmie kości. Praca zwraca uwagę na możliwość subtelnych modyfikacji strukturalnych tych materiałów, co może przyczynić się do ich lepszej adaptacji do zastosowań medycznych. Dodatkowo, wprowadzenie jonów  $\text{Eu}^{3+}$  jako optycznie czynnej domieszki oraz jonów  $\text{Rb}^{+}$  jako alternatywy dla litu stanowi innowacyjne podejście do modyfikacji hydroksyapatytu. **Proszę o wytłumaczenie wyboru  $\text{Rb}^{+}$  jako domieszki do hydroksyapatytu.**

Głównym celem pracy było zrozumienie wpływu jonów  $\text{Rb}^{+}$  na strukturę krystaliczną hydroksyapatytowej matrycy oraz ich oddziaływanie na właściwości luminescencyjne jonów  $\text{Eu}^{3+}$  w matrycy apatytowej. Autorzy przeprowadzili dwie serie eksperymentów, różniące się stężeniem jonów  $\text{Eu}^{3+}$  i  $\text{Rb}^{+}$ , co pozwoliło na kompleksową analizę wpływu różnych parametrów na otrzymany materiał.

Przeprowadzone badania fizykochemiczne obejmujące proszkową dyfrakcję rentgenowską, skaningową mikroskopię elektronową, transmisyjną mikroskopię elektronową, spektroskopię w podczerwieni oraz techniki spektroskopii emisyjnej dostarczają wszechstronnych informacji na temat struktury i właściwości otrzymanych kompozytów. Analiza biologiczna, w tym testy cytotoksyczności, mikroskopia fluorescencyjna, test hemolityczny i mikroskopia konfokalna, stanowi istotne uzupełnienie, umożliwiając ocenę potencjału biomedycznego tych materiałów.

Warto zauważyć, że otrzymane materiały utrzymane zostały w heksagonalnej strukturze hydroksyapatytu, co potwierdzono za pomocą proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej.

Badania luminescencyjne potwierdziły wpływ jonów rubidu na charakterystykę emisji jonów  $\text{Eu}^{3+}$ , co może być kluczowe dla ich potencjalnych zastosowań w bioobrazowaniu. Wzrost intensywności pasm emisji wraz ze zwiększającym się stężeniem jonów  $\text{Rb}^{+}$  sugeruje możliwość precyzyjnej regulacji właściwości luminescencyjnych otrzymanych kompozytów. **Dlaczego testy cytotoksyczności wykonywane były tylko w przedziale 24h?**

Podsumowując, praca jest starannie przemyślana i przeprowadzona, dostarczając cennych informacji na temat wpływu jonów  $Rb^+$  na hydroksyapatytową matrycę z jonami  $Eu^{3+}$ . Wskazuje na potencjał tych materiałów w medycynie regeneracyjnej i otwiera drogę do dalszych badań nad ich zastosowaniami praktycznymi.

Artykuły przedstawione jako cykl prac są spójne a zrealizowane badania potwierdzają osiągnięcie celów pracy.

Przeprowadzone badania skupiły się na strukturze hydroksyapatytu o ciekawych cechach. Badania właściwości biologicznych potwierdziły wysoką biogodność otrzymanych nanomateriałów, nie tylko wobec fibroblastów ludzkich, ale również wobec fibroblastów mysich. Aktywność metaboliczna obu linii komórkowych osiągała najwyższe wyniki w relatywnie wysokich stężeniach, co wskazuje na potencjał tych materiałów do dalszych testów biologicznych, w tym testów *in vivo*.

Wyniki analizy właściwości biologicznych potwierdzają wysoką biogodność nanomateriałów zarówno wobec linii osteoblastów, jak i erytrocytów, co świadczy o potencjale tych materiałów do zaawansowanych badań biologicznych, włączając testy *in vivo*. **Praca ta otwiera perspektywy dla dalszych badań nad zastosowaniem tych nanomateriałów, szczególnie w kontekście ich potencjalnych zastosowań w medycynie regeneracyjnej.**

Dysertacja zawiera parę błędów edytorskich takich jak powtarzające się rozwinięcie skrótów, przesunięcia akapitów czy dość frywolne podejście do używania kursywy. Nie umniejsza to jednak wartości merytorycznej pracy, którą oceniam wysoko.

## 5. Ocena całego dorobku naukowego i zawodowego

Pani Nicole Nowak jest współautorką 7 prac (nie wchodzących w skład pracy doktorskiej) oraz 1 zgłoszenia patentowego. Jako doktorantka brała udział w konferencjach (wystąpienia z plakatem i ustne) oraz uczestniczyła w wielu szkoleniach poszerzających jej wiedzę. Aktywnie brała również udział w dwóch grantach badawczych.

## 6. Wniosek końcowy

W mojej ocenie, rozprawa doktorska mgr Nicole Nowak pt. „Otrzymywanie oraz badanie kompozytów na bazie nanokrystalicznych apatytów domieszkowanych biologicznie aktywnymi jonami przeznaczonych do wypełnień ubytków tkankowych oraz regeneracji tkanek.”, która została przedstawiona do recenzji, **spełnia wszelkie wymogi formalne i proceduralne zgodnie z obowiązującym prawem.** W związku z tym, zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN z uprzejmą prośbą o **dopuszczenie mgr Nicole Nowak** do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.