

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej **mgr Anety Dwyer**  
nt. „**Funkcjonalizacja powierzchni stali 316LVM pod kątem  
uwarunkowań i oddziaływania z układem sercowo- naczyniowym**”

### **Formalna podstawa recenzji**

Podstawę formalną opracowania przedmiotowej recenzji, stanowiła Uchwała Nr 30/2023 Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej z dnia 20 kwietnia 2023 r. w sprawie wyznaczenia recenzentów rozprawy doktorskiej i przedstawiona w skierowanym do mnie piśmie Przewodniczącej Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej prof. dr hab. inż. Ewy Piętki. Recenzowana praca została napisana pod kierunkiem dr hab. inż. Marcina Basiagi prof. PŚ.

### **Aktualność podjętego tematu**

Modyfikacje powierzchni stali nierdzewnej stosowane na stenty naczyniowe mają na celu poprawienie biokompatybilności i zapobieganie negatywnym reakcjom organizmu na implant. Niepożądane skutki takie jak zakrzepy, restenoza czy reakcje zapalne to częste powikłania po implantacji stentu. W odpowiedzi na to, producenci stentów naczyniowych wciąż poszukują nowych sposobów modyfikacji powierzchni, które pozwolą na minimalizację tych problemów. W produkcji stentów naczyniowych stosuje się modyfikację powierzchni stali nierdzewnej w celu zwiększenia biokompatybilności i zmniejszenia ryzyka powikłań związanych z implantacją. Metody modyfikacji skupiają się na zmianie topografii, chemicznego składu powierzchni, chropowatości, zwilżalności oraz tworzeniu platform uwalniających leki i substancje biologiczne. Nanoszenie specjalnych warstw na powierzchnię stentu jest jednym ze sposobów modyfikacji, które zmniejsza ryzyko reakcji zapalnej organizmu na implant. Jednym z innowacyjnych podejść w modyfikacji powierzchni stentów jest nanoszenie warstw hydrofilowych, które zwiększają adhezję i proliferację komórek śródbłonna, poprawiając przy tym biokompatybilność stentu i ograniczając ryzyko restenozy. Stosowanie nanotechnologii również cieszy się coraz większym zainteresowaniem, ponieważ pozwala na precyzyjne manipulowanie strukturą powierzchni stali nierdzewnej, a co za tym idzie, poprawienie adhezji komórek i wprowadzenie antybiotyków bezpośrednio na powierzchnię stentu. Innym podejściem jest stosowanie powłok biologicznych, które poprawiają biokompatybilność stentu, zmniejszają ryzyko powikłań związanych z implantacją oraz zapobiegają niepożądanym reakcjom organizmu na implant. Badania nad zastosowaniem

cytokin, białek i polisacharydów w modyfikacji powierzchni stentów naczyniowych pokazują obiecujące wyniki w redukcji restenozy i reakcji zapalnych.

Modyfikacje powierzchni stentów naczyniowych to obszar intensywnych badań i ciągłego rozwoju. Innowacyjne podejścia, takie jak nanotechnologia czy stosowanie powłok biologicznych, wydają się być obiecującymi kierunkami w poprawie biokompatybilności stentów naczyniowych i zmniejszeniu ryzyka powikłań związanych z implantacją. Warto jednak zaznaczyć, że modyfikacje powierzchni stali nierdzewnej stosowane na stenty naczyniowe są ciągle przedmiotem badań i rozwoju, a ich wpływ na długoterminowe efekty kliniczne wymaga ciągłego badania. Nadal trwają intensywne prace nad modyfikacją powierzchni stentów, ale brakuje satysfakcjonujących rozwiązań. Istnieją wyzwania związane z występowaniem późnej zakrzepicy w stencie, a opracowanie idealnej powierzchni stentu jest trudnym zadaniem. Uszkodzony podczas implantacji naturalny śródbłonek bierze udział w procesie przebudowy ścian naczyń, co utrudnia stworzenie odpowiednio funkcjonalnej powierzchni stentu. Materiał, z którego wykonany jest stent, musi zapewnić nie tylko podparcie dla ścian naczyń, ale także odpowiednią biokompatybilność.

W związku z powyższym **tematykę opiniowanej pracy uważam za celową i aktualną z naukowego i praktycznego punktu widzenia.**

Aktualność podejmowanej tematyki potwierdzają polskie i zagraniczne doniesienia literaturowe. Wyniki z pewnością znajdą zastosowanie w praktyce przemysłowej. Mocną stroną tematyki pracy jest jej badawczy charakter oraz potencjał aplikacyjny.

### **Zakres opiniowanej pracy**

*Struktura pracy* składa się z ośmiu rozdziałów głównych, z których pierwsze trzy dotyczą badań literaturowych, natomiast kolejne pięć rozdziałów zawiera autorskie opracowanie tematu dysertacji. Recenzowana praca liczy 109 stron, jest bogato ilustrowana, zawiera 47 rysunków, 12 tabel oraz 117 pozycji literatury.

*Teoretyczna analiza stanu zagadnienia* przedstawia tło zagadnienia w kontekście przedmiotu rozprawy doktorskiej, którymi są powłoki z  $\text{TiO}_2$  nanoszone metodą ALD na podłoże ze stali 316LVM z przeznaczeniem na implanty do kontaktu z krwią.

W literaturowej części pracy odniesiono się między innymi do problematyki chorób układu sercowo-naczyniowego i chorób układu sercowo-naczyniowego. Omówiono przyczyny powstawania chorób i sposoby ich leczenia. Autorka stwierdza, że choroby układu sercowo-naczyniowego obejmują szeroką grupę schorzeń naczyń krwionośnych oraz schorzeń i wad wrodzonych serca. Do najgroźniejszych zdarzeń związanych z tymi chorobami należą zawały serca i udary niedokrwienne mózgu, spowodowane zazwyczaj zablokowaniem naczyń krwionośnych doprowadzających krew do serca lub mózgu. Najczęstszą przyczyną blokowania naczyń krwionośnych jest skrzeplina powstająca w wyniku pęknięcia blaszki miażdżycowej, jej owrzodzenia, wytworzenia szczeliny lub nadżerki.

Szczególną uwagę zwrócono uwagę na problematykę modyfikacji powierzchni implantów sercowo-naczyniowych. Autorka na podstawie literatury słusznie stwierdza, że możliwości poprawy właściwości użytkowych biomateriałów poprzez modyfikacje ich składu chemicznego zostały prawie całkowicie wyczerpane a alternatywą są nowoczesne techniki inżynierii powierzchni. W związku z tym strategię modyfikacji powierzchni dotyczących stentów skupiają się wokół nowoczesnych metod zmiany topografii, składu chemicznego powierzchni, chropowatości, zwilżalności oraz stworzenia platform uwalniających leki i substancje biologiczne.

Istotnym aspektem poruszonym w tej części pracy jest podrozdział dotyczący modyfikacji powierzchni stali nierdzewnej stosowanej na stenty naczyniowe. Szczegółowa analiza stanu zagadnienia omawia różne warstwy stosowane na implanty stwierdzając, że obiecującą strategią stosowaną w walce z restenozą oraz wykrzepianiem krwi jest modyfikacja powierzchni implantu powłokami hemokompatybilnymi. Podsumowując badania literaturowe Autorka stwierdza, że nadal istnieją trudności z uzyskaniem kompleksowej charakterystyki zachowania implantów w warunkach implantacji i długotrwałego kontaktu z tkankami. Literatura naukowa wskazuje, że metody nakładania warstw powierzchniowych, takie jak zol-żel, PVD, CVD, RFMS, są najczęściej stosowane. Niestety, te metody mają wadę polegającą na nierównomiernym pokrywaniu złożonych powierzchni implantów, takich jak stenty naczyniowe, co jest niezwykle istotne. Dlatego uzasadnione jest zastosowanie metody niskotemperaturowej, która spełnia to kryterium.

Analiza literaturowa zawiera wieloaspektowe odniesienia do literatury przedmiotu. Na uwagę zasługuje obszerny udokumentowany przegląd literatury. Część literaturowa pracy prezentuje aktualny stan zagadnienia w zakresie analizowanego obszaru wiedzy.

*Cel, założenia i tezę pracy* przedstawiono w sposób syntetyczny. Jasno i precyzyjnie określono cel pracy, którym była ocena wpływu właściwości fizykochemicznych powłok na bazie dwutlenku tytanu na procesy zachodzące na powierzchni implantów wykonanych ze stali nierdzewnej po ich wprowadzeniu do układu krwionośnego. Analiza literatury pozwoliła na określenie jednoznacznej tezy badawczej zakładającej, że funkcjonalizacja stali 316LVM powłoką  $\text{TiO}_2$  naniesioną metodą osadzania warstw atomowych ALD o własnościach fizykochemicznych adekwatnych do specyfiki układu sercowo-naczyniowym zapewnia odpowiednią biokompatybilność w odniesieniu do wybranych badań *in vitro* dedykowanych dla implantów kontaktujących się z krwią i tkankami naczyń krwionośnych. Do weryfikacji przyjętej tezy Autorka zaproponowała adekwatny program badawczy pozwalający na pełną charakterystykę procesów zachodzących na powierzchni implantów wytworzonych z stali 316LVM po ich wprowadzeniu do układu krwionośnego.

*W części dotyczącej metodyki badań* Doktorantka omówiła metodykę badań oraz aparaturę badawczą wykorzystywaną w swojej pracy. W szczególności badanie składu chemicznego warstwy powierzchniowej przeprowadzono metodą spektroskopii elektronów Augera (AES) z wykorzystaniem Scanning Nanoprobe System PHI, modelu 670 firmy Physical Electronics PHI 670. Badania grubości naniesionych powłok wykonano z wykorzystaniem reflektometru F10-RT. Badanie odporności na korozję wżerową przeprowadzono metodą

potencjodynamiczną zgodnie z normą ASTM F2129-19a / PN-EN ISO 10993-15:2009. Stanowisko pomiarowe składało się z potencjostatu VoltaLab PGP201, elektrody odniesienia, elektrody pomocniczej w postaci drutu platynowego, anody (badana próbka) oraz komputera PC wraz z oprogramowaniem VoltaMaster 4. Badania adhezji powłok TiO<sub>2</sub> naniesionych na podłoże ze stali 316LVM przeprowadzono metodą zarysowania – scratch test – przy użyciu platformy otwartej wyposażonej w Micro-Combi-Tester firmy CSM zgodnie z normą PN-EN ISO 20502:2016-05. Wybór wariantu temperaturowego do dalszych badań polegał na przeanalizowaniu dotychczasowych wyników badań i wybraniu optymalnych wariantów temperaturowych do dalszego etapu. Jako decydujące wybrano czynniki, które w największym stopniu wpływały na poprawę właściwości powłoki. W celu określenia podatności do odkształceń powłok TiO<sub>2</sub> naniesionej na stal 316LVM przeprowadzono próbę zginania na próbkach o średnicy 1,5 mm. Charakterystykę mikrostruktury warstwy powierzchniowej przeprowadzono z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej TEM. Cienkie folie do analiz TEM wykonano techniką zogniskowanej wiązki jonów galu (technika FIB). W ramach badań własności biologicznych przeprowadzono serię badań w skład których weszło badanie cytotoksyczności, badanie proliferacji komórek, badania własności trombogennych, ocena oddziaływania biomateriału na krwinki czerwone oraz oznaczanie cytokin prozapalnych.

*W części opisującej wyniki badań* udokumentowano przeprowadzone badania poprzez ich prezentację w formie tabel zdjęć i wykresów. Wyniki przeprowadzonego składu chemicznego warstwy powierzchniowej pokazały, że powłoka TiO<sub>2</sub> na podłożu stali 316LVM zawierała tytan i tlen w położeniach charakterystycznych dla wiązania TiO<sub>2</sub> i nie stwierdzono obecności Cr i Ni. Na podstawie wyników uzyskanych z pomiarów grubości warstw powłoki TiO<sub>2</sub> stwierdzono, że średnia ich grubość wynosiła 35nm. Badania odporności na korozję wżerową pokazały, że jedynie próbka z powłoką TiO<sub>2</sub> naniesioną w temperaturze 400°C nie poprawiła odporności na korozję wżerową w porównaniu z próbkami niepokrytymi. Badania adhezji powłok do podłoża wykazały, że najlepszą przyczepnością do podłoża ze stali 316LVM charakteryzowały się próbki z powłoką TiO<sub>2</sub> naniesioną w temperaturach T = 200°C oraz T = 300°C. Wyniki badania zwilżalności i energii powierzchniowej wykazały, że powłoka TiO<sub>2</sub> niezależnie od temperatury procesu jej nanoszenia zwiększyła wartość kąta zwilżania. Wyniki badań topografii powierzchni z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych AFM oraz z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego SEM nie wykazały różnic w morfologii powierzchni w zależności od zastosowanej temperatury procesu ALD. Zarówno metodyka i wyniki badań wyboru wariantu temperaturowego do dalszych badań są opisane wystarczająco aczkolwiek w moim odczuciu bardzo oszczędnie. W przypadku badań podatności powłoki do odkształceń stwierdzono, że naniesienie powłoki TiO<sub>2</sub> powoduje obniżenie wartości potencjałów korozyjnych w stosunku do stanu wyjściowego i jednocześnie tendencja ta utrzymuje się niezależnie od kąta wygięcia próbek. Badania własności biologicznych wykazały we wszystkich badanych przypadkach pozytywny wpływ warstw TiO<sub>2</sub> na właściwości biologiczne.

*Omówienie wyników badań* prezentuje syntetyczną analizę poszczególnych wyników badań w kontekście tematu rozprawy. Autorka stwierdza, że na podstawie przeprowadzonych badań składu chemicznego nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładzie składu chemicznego

powłoki TiO<sub>2</sub> w zależności od temperatury procesu nanoszenia. Ponadto wykazała, że najkorzystniejszą odpornością na korozję charakteryzowała się próbka z powłoką TiO<sub>2</sub> naniesioną w temperaturze 200°C. W ramach przeprowadzonych badań topografii powierzchni z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych AFM oraz z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego SEM nie stwierdzono istotnych różnic w topografii powierzchni w zależności od zastosowanej temperatury procesu ALD. Autorka w ramach oceny mikrostruktury wykazała, że amorficzny charakter powłoki potwierdzony został za pomocą skaningowej transmisyjnej mikroskopii elektronowej STEM oraz obrazów wysokorozdzielczych HRTEM jednocześnie stwierdzając, że w przypadku badania adhezji powłoki do podłoża zaobserwowano ciągłą plastyczną perforację powłoki. W ramach badań własności biologicznych przeprowadzono również ocenę oddziaływania biomateriału na krwinki czerwone. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono zróżnicowane wartości indeksu hemolitycznego. Stwierdzono obniżenie się wartości indeksu hemolizy dla próbek z powłoką TiO<sub>2</sub> w porównaniu do próbek w stanie wyjściowym.

*W ostatniej części zawierającej wnioski* doktorantka podsumowała w punktach najważniejsze informacje wynikające z przeprowadzonych badań. Wnioski właściwie prezentują wyniki badań i krótko podsumowują przeprowadzoną analizę wyników.

#### **Uwagi redakcyjne**

- Str. 51; Tabela 4; Brak jednostki przy opisie „Temperatura komory”.
- Str. 52/13 linijka; Niepotrzebny akapit
- Str. 73; Opisy na rycinach są mało czytelne.
- Str. 85-86; Ryc. 46 i Ryc. 47; Brak opisów osi pionowej.
- Str. 95 ostatni wniosek jest: „... *trombogenności* ...” powinno być: *trombogenności*

#### **Uwagi dyskusyjne**

- Str. 27/3 linijka „Na biogodność *urządzeń* w układzie krążenia ...” czy słowo „*urządzenie*”, użyte w tym kontekście, ma jakieś inne znaczenie niż implant?
- Czy opracowana funkcjonalizacja powierzchni stali 316LVM może być stosowana w innych implantach?
- W jaki sposób badano skład chemiczny i własności mechaniczne stali 316LVM przedstawione w tabeli 2 i tabeli 3.
- Które czynniki zdecydowały o wyborze wariantu temperaturowego? Proszę o zestawienie tabelaryczne.
- Czy są znane wyniki (scratch) testu zarysowania dla podłoża ze stali 316LVM?
- Dlaczego do oceny podatności powłoki do odkształceń zastosowano analizę wartości oporu polaryzacyjnego a nie np. badania mikroskopowe, które mogłyby ujawnić rzeczywiste odkształcenia oraz pęknięcia warstw?

## Ocena merytoryczna rozprawy

Przegląd literatury bazujący na 117 pozycjach był podstawą zdefiniowania celu i zakresu pracy. Przedstawione przez Doktorantkę dane literaturowe dotyczą bezpośrednio problematyki implantów stosowanych w układzie krążenia rozważanej w pracy, umożliwiając ocenę aspektów poznawczych i naukowych pracy. Cytowane prace są aktualne i dobrze dobrane, w dużej części są to publikacje z renomowanych czasopism.

Rozprawa doktorska w dużej mierze skupia się na analizie i porównaniu próbek w postaci krążków o średnicy  $d = 14$  mm i grubości  $g = 3$  mm ze stali stal 316LVM poddanych badaniom mechaniczno-biologicznym. Praca wystarczająco przedstawia zagadnienie badawcze zarówno od strony sformułowanych treści jak i formy rozprawy. Struktura rozprawy w moim przekonaniu jest prawidłowa. W rozprawie nie ustrzeżono się drobnych błędów edytorskich niewpływających w istotny sposób na czytelność i zrozumienie intencji Autora. Procedury badawcze użyte w pracy są w większości standardowe lub znormalizowane i przyjęte w pracy zgodnie z ich przeznaczeniem.

Za najmocniejszą stronę pracy uważam jej użyteczny charakter. Z punktu widzenia aplikacyjnego, najbardziej obiecujące są wyniki sugerujące przeciwzapalne właściwości powłoki oraz znaczna poprawa odporności korozyjnej dla wariantu temperatury nanoszenia  $200^{\circ}\text{C}$ . Rozwinięcie tej idei może w przyszłości pozwolić na jej wykorzystanie w innych aplikacjach.

Za najbardziej istotny wniosek z pracy uważam stwierdzenie, że powłoka naniesiona w temperaturze  $200^{\circ}\text{C}$  nie powoduje trombogenności oraz hemolizy, wykazuje działanie przeciwzapalne w porównaniu do podłoża, które ma potencjał zapalny, co zostało potwierdzone w odpowiednich badaniach in vitro.

**Postawiony cel pracy uważam za osiągnięty, założony zakres pracy za zrealizowany a teza pracy za w pełni udowodnioną i udokumentowaną.**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Anety Dyner zawiera samodzielne opracowanie zagadnienia naukowego. Doktorantka wykazała się należyłą wiedzą oraz umiejętnościami prowadzenia badań naukowych i prezentacji wyników. Na podkreślenie zasługuje fakt, że praca została zrealizowana przy dużym nakładzie pracy i środków związanych z wykonaniem badań. Wykonanie badań wymagało od Doktorantki znajomości teorii i praktyki badawczej z zakresu inżynierii biomedycznej. Uzyskane wyniki mają unikalną wartość poznawczą i naukową, należy je uznać za wartościowe i w dużym stopniu jako oryginalne osiągnięcia Autora rozprawy.

## **Wniosek końcowy**

Opiniowana rozprawa doktorska mgr Anety Dyner pt. „**Funkcjonalizacja powierzchni stali 316LVM pod kątem uwarunkowań i oddziaływania z układem sercowo-naczyniowym,**” stanowi istotny wkład w rozwój wiedzy w zakresie Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna.

Doktorantka osiągnęła założony cel wykazując się znajomością zagadnień z zakresu inżynierii biomedycznej, oraz nowoczesnej metodyki i technik badawczych. Zaprezentowała oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazała się ogólną wiedzą teoretyczną oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. **Wnioski wynikające z rozprawy stanowią oryginalny wkład naukowy autora w rozwój Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna.**

**W mojej ocenie przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Anety Dyner w pełni spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim przez Ustawę z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (j.t. Dz. U. z 2022 r. poz. 574, z późn. zm.) oraz Statutu Politechniki Śląskiej (Monitor Prawny PŚ z 2020 r. poz. 339, z późn. zm.), w związku z § 9 ust. 1 Regulaminu w zakresie nadania stopnia doktora stanowiącego załącznik do uchwały nr 20/2022 Senatu Politechniki Śląskiej z dnia 25 kwietnia 2022 r. w sprawie wprowadzenia Regulaminu w zakresie nadania stopnia doktora (Monitor Prawny PŚ z 2022 r. poz. 317, z późn. zm.), i wnioskuję o jej dopuszczenie do publicznej obrony.**

Biorąc pod uwagę kompleksowe podejście do rozwiązania problemu postawionego w pracy problemu, duży wkład pracy oraz aplikacyjny charakter wyników badań **stawiam wniosek o wyróżnienie pracy.**



.....  
Prof. dr hab. inż. Piotr LACKI  
Politechnika Częstochowska  
Częstochowa, 17.05.2023