

Białystok, 19.12.2024 r.

Dr hab. inż. Małgorzata Grądzka-Dahlke, prof. PB
Politechnika Białostocka, Wydział Mechaniczny
Ul. Wiejska 45C, 15-351 Białystok

RECENZJA

rozprawy doktorskiej

mgr inż. Karoliny Goldsztajn

pt.

Ocena właściwości fizycznych i chemicznych biodegradowalnych powłok polimerowych zawierających hydroksyapatyt i substancję aktywną

Opracowana na zlecenie
Przewodniczącego Rady Dyscypliny
Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej
Prof. dr hab. inż. Roberta Michnika

1. Uwagi dotyczące zasadności wyboru tematu rozprawy i zakresu pracy

Przedmiotem rozprawy są naukowe i aplikacyjne zagadnienia modyfikacji powierzchni implantów dokostnych. Temat pracy wpisuje się w aktualny trend poszukiwań naukowych w zakresie nowych metod modyfikacji implantów ze stopów tytanu celem poprawy ich właściwości funkcjonalnych. Autorka zaproponowała biodegradowalną powłokę polimerową dodatkowo wzbogaconą o hydroksyapatyt oraz substancję aktywną, co powinno zapewnić lepsze wrastanie implantu oraz ograniczyć ryzyko infekcji.

Zakres pracy obejmuje szeroki plan badawczy, począwszy od analizy stanu wiedzy, poprzez sformułowanie problemu naukowego, dobór właściwych metod eksperymentalnych i realizację szeroko zakrojonego programu badawczego. Uważam, że zakres pracy został prawidłowo określony dla udowodnienia sformułowanej tezy rozprawy.

2. Struktura i ogólna charakterystyka pracy

Praca jest kompletna, jej układ jest poprawny i logiczny, wynika z przyjętego planu prowadzonych badań.

Opiniowana praca podzielona została na dwie części, wyraźnie oddzielające przegląd istniejących rozwiązań od badań własnych Autorki. Na końcu przedstawiono spis literatury oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Całość została zaprezentowana na 96 stronach. Rozprawa powstała pod kierunkiem dr hab. inż. Janusza Szewczenko, prof. PŚ.

Praca zaczyna się Wprowadzeniem, w którym Doktorantka zawarła uzasadnienie wyboru tematu rozprawy, wskazując na znaczenie potrzeby poszukiwań metod modyfikacji powierzchniowej implantów tytanowych celem poprawy ich funkcjonalności.

Część pierwsza poświęcony jest przeglądowi literatury związanej z tematyką pracy, ze szczególnym uwzględnieniem metod leczenia złamań kostnych oraz metod modyfikacji powierzchniowej implantów tytanowych. Autorka wskazała korzyści zastosowania powłok polimerowych celem poprawy biokompatybilności implantów metalicznych oraz możliwości rozszerzenia ich działania poprzez uwalnianie dodatków do okolic okołowoszczepowych.

Część druga, obejmująca badania własne Doktorantki, zawiera sześć rozdziałów.

W rozdziale pierwszym sformułowano cel i tezę pracy; plan badań został przedstawiony na schemacie.

Następnie przedstawiono opis materiału, użytego do badań oraz sposoby przygotowania powierzchni, a także syntetyczną charakterystykę metod badawczych, stosowanych w pracy. Należy podkreślić adekwatność wyboru metod badawczych do zaplanowanego zadania, tj. do przyjętej funkcjonalnej modyfikacji powierzchniowej stopu tytanu.

Istotną część pracy zawiera rozdział czwarty, w którym na 25 stronach zaprezentowano wyniki przeprowadzonych badań. W pierwszym podrozdziale rozdziału piątego przedstawiono charakterystykę powłoki pod kątem składu chemicznego warstwy wierzchniej po anodowaniu, w drugim - morfologię powierzchni z naniesionymi powłokami po 3, 6 oraz 9 tygodniach ekspozycji w PBS. Kolejne podrozdziały zawierają wyniki oceny zwilżalności powierzchni, adhezji powłoki do podłoża oraz składu fazowego powierzchni. Najbardziej istotnymi z punktu widzenia wykorzystania materiałów na implanty są badania właściwości elektrochemicznych i biologicznych, co zostało przedstawione w podrozdziałach od 6 do 11.

Najważniejszy merytorycznie jest piąty rozdział drugiej części pracy, zawierający omówienie uzyskanych wyników badań. Przedstawione w poprzednim rozdziale wyniki charakterystyki powierzchni oraz analizę jej właściwości fizycznych, elektrochemicznych i biologicznych odniesiono do potrzeb wynikających z założonej aplikacji materiału na implanty dokostne. Wszystkie wyniki potwierdziły przydatność zastosowanej modyfikacji powierzchni do poprawy właściwości funkcjonalnych powierzchni stopu tytanu, czym udowodniono tezę postawioną w pracy.

W rozdziale szóstym sformułowano pięć wniosków z zakresu badań.

Na końcu zostały zamieszczone jednostronicowe streszczenia pracy w języku polskim i angielskim.

Wykaz literatury obejmuje 152 pozycje. Ich wybór można uznać za pełny i dobrze dobrany. Należy podkreślić aktualność cytowanej literatury, jedynie cztery pozycje ukazały się w 20 wieku (głównie podstawowe publikacje z zakresu podstaw metod badawczych), natomiast pozostałe to publikacje i opracowania najnowsze. Wszystkie pozycje literaturowe są cytowane w pracy.

3. Ocena celu i tezy pracy

Przedstawiony w rozdziale II.1 cel pracy brzmi następująco:

Celem pracy jest ocena właściwości fizycznych i chemicznych biodegradowalnych powłok polimerowych zawierających hydroksyapatyt oraz substancję aktywną, naniesionych na powierzchnię stopu Ti6Al7Nb wykorzystywanego na implanty do osteosyntezy.

Na podstawie analizy literatury sformułowano także tezę pracy:

Poprawa biokompatybilności implantów ze stopu Ti6Al7Nb oraz wspomaganie procesu regeneracji tkanki kostnej jest możliwe przez zastosowanie biodegradowalnych powłok polimerowych, zawierających hydroksyapatyt i substancję aktywną.

Przedstawiona teza oraz cel pracy dobrze definiują obszar zadań niezbędnych do rozwiązania postawionych problemów. Przyjęty szeroki plan badań eksperymentalnych pozwolił w pełni na osiągnięcie założonego celu oraz udowodnienie postawionej tezy.

4. Ocena i uwagi merytoryczne dotyczące rozprawy

Zaproponowany temat rozprawy jest aktualny i ważny, zarówno z naukowego punktu widzenia, jak też utylitarnego. Pomimo wielu propozycji, na rynku medycznym wciąż prowadzone są poszukiwania rozwiązania gwarantującego odpowiednią trwałość i niezawodność implantów, stawiane są coraz wyższe wymagania odnośnie do poprawy warunków regeneracji tkanki kostnej, możliwości przeciwdziałania infekcjom w krótkich okresach po zabiegu implantacji oraz przenikania szkodliwych jonów metali do otaczających tkanek.

Na podstawie analizy danych literaturowych oraz badań własnych przyjęto modyfikację powierzchni stopu Ti6Al7Nb poprzez naniesienie biodegradowalnej powłoki polimerowej PLGA zawierającej dodatkowo hydroksyapatyt i deksametazon. Modyfikację wykonano zgodnie z metodyką wcześniej opracowaną przez Doktorantkę i opisaną w jej wcześniejszych publikacjach. Przy charakterystyce materiałów badawczych podano, że powłoki były wykonane przy użyciu 1% roztworu PLGA w chlorku metylenu, natomiast zabrakło opisu dodatków – wielkości cząstek w przypadku hydroksyapatytu oraz postaci deksametazonu. Badane materiały poddano ekspozycji na roztwór PBS w czasie 3, 6 i 9 tygodni.

Zaplanowano i zrealizowano kompleksowy program badawczy, obejmujący szczegółową charakterystykę wytworzonej powłoki, jej właściwości fizycznych, elektrochemicznych oraz biologicznych.

Badania składu chemicznego warstwy wierzchniej po procesie anodowania przeprowadzono metodą rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów (XPS). Szczegółowa analiza sygnałów pozwoliła na identyfikację tlenków o różnej stechiometrii występujących w warstwie. Zmiany w składzie warstwy zostały przedstawione w funkcji czasu trawienia jonami Ar^+ . Interesującym byłoby powiązanie tego parametru z grubością warstwy wierzchniej. W podrozdziale II.4.2. Morfologia powierzchni przedstawiono wyniki obserwacji mikroskopowych (SEM) powierzchni otrzymanych powłok polimerowych oraz powłok poddanych ekspozycji na roztwór PBS. Analizowano także topografię powierzchni za pomocą profilometru optycznego. Wyniki wykazały, że warstwa modyfikowana charakteryzuje się wyższymi parametrami chropowatości od kontrolnej powłoki PLGA, co powinno sprzyjać osteointegracji implantu z kością.

Badania zwilżalności powierzchni wykazały, że modyfikowana powłoka polimerowa wykazuje właściwości hydrofilowe, co powinno zapobiegać adhezji białek i bakterii do implantu.

Charakterystykę powierzchni implantów uzupełniono o analizę fazową XRD. W strukturze obecna jest faza $\alpha\text{-Ti}$ oraz $\beta\text{-Ti}$, co potwierdza dwufazową strukturę stopu Ti6Al7Nb . Na dyfraktogramach zidentyfikowano ponadto fazę $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Dane zestawione w Tabeli 10 pokazują, że wraz ze wzrostem czasu ekspozycji próbek na roztwór PBS maleje zawartość hydroksyapatytu. Natomiast przedstawienie udziału procentowego faz tytanu i hydroksyapatytu w ostatniej kolumnie tabeli jest błędem, ponieważ piki od faz tytanowych pochodzą z podłoża, natomiast od hydroksyapatytu – z powłoki polimerowej, więc trudno mówić o udziale masowym poszczególnych faz w jakiejś całości.

W przypadku materiałów implantacyjnych jedną z najważniejszych cech, determinujących ich przydatność, są właściwości elektrochemiczne. W pracy zrealizowano badania elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej oraz wpływu zastosowanej modyfikacji polimeru PLGA oraz czasu ekspozycji na roztwór PBS na odporność na korozję wżerową materiału metodą potencjodynamiczną. Szczegółowe omówienie otrzymanych wyników wskazuje na bardzo dobrą znajomość i rozumienie tych technik badawczych. Również analiza przenikania jonów metali do roztworu w warunkach ekspozycji w roztworze PBS potwierdziła korzystne działanie powłok polimerowych na ograniczenie procesu uwalniania jonów. Standardem w badaniach biomateriałów jest ocena ich właściwości biologicznych. W ramach pracy przeprowadzono badania cytotoksyczności poprzez ocenę żywotności komórek oraz badania cytokin prozapalnych. Wyniki badań zaprezentowano w rozdziale II.4, głównie

w postaci czytelnych rysunków i tabel z krótkim opisem ilościowym. Natomiast omówienie wyników przeniesiono do oddzielnego rozdziału II.5. Takie rozwiązanie jest praktykowane, szczególnie w piśmiennictwie medycznym, gdzie często dyskusja jest poparta analizą wyników badań innych autorów. W przypadku recenzowanej rozprawy należy stwierdzić, że dyskusja wyników, szczególnie w zakresie badań korozyjnych i biologicznych, jest na dobrym poziomie. Konkluzja, że przeprowadzone badania potwierdziły słuszność przyjętej tezy jest jak najbardziej prawdziwa.

W podsumowaniu potwierdzono słuszność przyjętej tezy pracy, wskazano też na kierunki przyszłych badań, co potwierdza umiejętności Kandydatki do formułowania i rozwiązywania problemów naukowych.

Wnioski sformułowane w rozdziale II.6 odzwierciedlają wyniki badań i potwierdzają tezę pracy.

5. Uwagi szczegółowe dotyczące pracy

- 1) W pracy badano wpływ modyfikacji polimeru PLGA dodatkami hydroksyapatytu i deksametazonu na właściwości funkcjonalne implantu ze stopu tytanu Ti6Al7Nb. Dodatkowo oceniano wpływ ekspozycji próbek na działanie roztworu PBS w czasie 3, 6 i 9 tygodni. Nie podano, na jakiej podstawie przyjęto te czasy. Czy wybór był podyktowany szybkością degradacji polimeru, czy czasem przebywania implantu w organizmie?
- 2) Ważną charakterystyką powłoki nakładanej na implant jest jej grubość. Tego parametru zabrakło w pracy. Czy należy się spodziewać, że różnica w ilości przyjętych warstw PLGA (15 dla próbek kontrolnych i 22 dla próbek z powłoką modyfikowaną) będzie miała wpływ na grubość powłoki, a w rezultacie na właściwości funkcjonalne, szczególnie ilość uwalnianych jonów metali?
- 3) Interesującą byłaby także analiza przekrojów wytworzonych powłok, ocena w jaki sposób zastosowane dodatki hydroksyapatytu oraz deksametazonu wpływają na jednorodność polimeru.
- 4) W opisie wyników badań chropowatości powierzchni oraz zwilżalności podkreślano, że warstwa modyfikowana charakteryzuje się wyższymi parametrami chropowatości od kontrolnej powłoki PLGA, co powinno sprzyjać osteointegracji implantu z kością. Czy jest to pozytywny wynik w świetle informacji zawartej w rozdziale I.3 Metody leczenia złamań, że „implanty przeznaczone do czasowego przebywania w organizmie nie powinny indukować nadmiernego narastania powierzchni tkanką kostną”, co może wywołać problemy podczas usuwania implantu?

- 5) Niewątpliwie ważnym parametrem charakteryzującym powłoki naniesione na podłoże metaliczne jest ich adhezja do podłoża. Jak należy interpretować wyniki badań przy użyciu skaningowej mikroskopii akustycznej? Czy można wyciągać wnioski na podstawie obrazów przedstawione na rysunku 28?
- 6) Adhezja powłoki do podłoża, mierzona siłą krytyczną powodującą całkowite uszkodzenie powłoki, została przedstawiona dla zaproponowanej modyfikacji w porównaniu z niemodyfikowanym polimerem. Czy jest jednak ona wystarczająca i zapewnia wystarczającą ochronę powierzchni implantu w przypadku uszkodzenia mechanicznego warstwy, np. podczas zabiegu chirurgicznego?
- 7) W rozdziale II.4.5 poświęconym analizie składu fazowego analizowanych materiałów Autorka pisze, że „nie zaobserwowano pików charakterystycznych dla polimeru”. Czy PLGA wykazuje strukturę krystaliczną? Przedstawienie udziału procentowego faz tytanu i hydroksyapatytu w ostatniej kolumnie tabeli 10 jest błędem, ponieważ piki od faz tytanowych pochodzą z podłoża, natomiast od hydroksyapatytu – z powłoki polimerowej, więc trudno mówić o udziale masowym poszczególnych faz w jakiejś całości.
- 8) Czy próbowano porównać efekty zastosowanej modyfikacji powierzchni stopu tytanu z innymi rozwiązaniami opisanymi w literaturze fachowej lub stosowanymi w praktyce?

Praca jest napisana bardzo starannie pod względem edytorskim. Wszystkie rysunki oraz zestawienia tabelaryczne w sposób czytelny ilustrują treści zawarte w poszczególnych rozdziałach. Można znaleźć pojedyncze błędy, tzw. literówki, które nie wpływają na wartość merytoryczną pracy.

6. Wartość użyteczna pracy

Praca ma duży potencjał użyteczny. Implanty metaliczne ze stopów tytanu są wciąż najlepszym rozwiązaniem w przypadku urazów ortopedycznych i konieczności zespolenia kości. Zapewnienie poprawy przetrwania implantu kością, ochrony przed infekcją po operacji oraz ograniczenia przenikania jonów aluminium do krwi jest wciąż aktualnym problemem i przedmiotem licznych prac badawczych. Zastosowanie biodegradowalnych powłok polimerowych z możliwością uwalniania do otaczających tkanek substancji aktywnej, a następnie hydroksyapatytu wydaje się interesującą propozycją. W tym świetle wyniki uzyskane przez Autorkę są bardzo obiecujące.

7. Końcowa ocena pracy

Na podstawie przedłożonej opinii stwierdzam, że przedłożona rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego o istotnym znaczeniu poznawczym i użytecznym. Na każdym

etapie pracy Autorka wykazała się doskonałą znajomością wszystkich zagadnień z obszaru dyscypliny naukowej Inżynieria Biomedyczna, szczególnie w odniesieniu do przedmiotu swoich badań – implantów dokostnych. Rozprawa prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Karoliny Goldsztajn pt. „Ocena właściwości fizycznych i chemicznych biodegradowalnych powłok polimerowych zawierających hydroksyapatyt i substancję aktywną” spełnia wymogi Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz.U. z 2023 r. poz. 212). W związku z tym wnioskuję o jej przyjęcie i dopuszczenie do obrony publicznej.

Matylda Gyschke-Dahlke