

Prof. dr hab. inż. Agnieszka Sobczak-Kupiec
Katedra Inżynierii Materiałowej
Politechnika Krakowska
Al. Jana Pawła II 37
agnieszka.sobczak-kupiec@pk.edu.pl
tel. 12 628 34 48

Kraków, dn. 15.07.2023

Recenzja

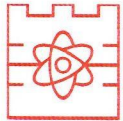
rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Krokos pt. „Polimerowo-ceramiczne biomateriały do regeneracji tkanki kostnej”

Recenzja została wykonana na podstawie pisma Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny „Nauki Chemiczne” Politechniki Wrocławskiej, dr hab. inż. Roberta Góry, profesora Uczelni z dnia 12.05.2023 r.

Rozprawa doktorska mgr inż. Anny Krokos została zrealizowana w Katedrze Inżynierii i Technologii Polimerów na Wydziale Chemicznym PWr pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Andrzeja Trochimczuka oraz dr inż. Małgorzaty Gazińskiej jako promotora pomocniczego. Praca została wykonana w ramach projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju nr techmatstrateg 2/406384/7/NCBR/2019 pt. „*Multifunkcyjne materiały kompozytowe o właściwościach przeciwbakteryjnych i pro-regeneracyjnych do rekonstrukcji tkanki kostnej*” GlassPoPep, projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki nr UMO-2017/27/B/ST8/01780 pt. „*Laser modification of bioresorbable polymeric materials in thermal processes of additive manufacturing*” oraz stażu zagranicznego pod kierownictwem prof. dr Michaela Gelinsky’ego w Centre for Translational Bone, Joint and Soft Tissue Research, Technische Universität Dresden finansowanego przez DAAD Niemiecką Agencję Wymiany Akademickiej.

Zakres pracy wpisuje się w nowoczesną tematykę badań, realizowanych w wiodących ośrodkach naukowych zarówno polskich jak i zagranicznych z zakresu materiałów dla inżynierii tkanki kostnej.

Badania prowadzone w ośrodkach naukowych wskazują, że stosowanie połączeń polil(L-laktydu) z fosforanami wapnia może wpłynąć pozytywnie na właściwości fizykochemiczne oraz bioaktywność. W literaturze przedmiotu jest wiele doniesień dotyczących modyfikacji cząstek ceramicznych, a badania nad stosowaniem aminokwasów



do modyfikacji hydroksyapatytu oraz bioszkiełka są prowadzone w wiodących ośrodkach zagranicznych. Ich wyniki są obiecujące i sugerują, że mogą one wspomagać procesy regeneracyjne.

Synteza biomateriałów hybrydowych, odtwarzających właściwości fizykochemiczne tkanek twardych człowieka, a także modyfikacja materiałów różnymi bioaktywnymi jonami i grupami funkcyjnymi w celu zainicjowania kontrolowanej reakcji w tkankach jest zadaniem złożonym i wielopoziomowym. W związku z tym podjęcie przez Doktorantkę tematu materiałów wspomagających funkcjonowanie układu kostnego jest w pełni uzasadnione.

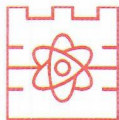
W związku z tym, że praca doktorska jest bezpośrednio związana z projektami badawczymi realizowanymi przez Zespół naukowców z Politechniki Wrocławskiej, Uniwersytetu Łódzkiego oraz Sieci Badawczej Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Doktorantka wskazała jaki był jej udział w realizowanych badaniach. Mgr inż. Anna Krokos zrealizowała prace laboratoryjne z zakresu modyfikacji hydroksyapatytu, wytworzenia kompozytów PLLA, analiz spektralnych, termicznych i pomiaru kąta zwilżania. Doktorantka zaproponowała sposób wykorzystania czynników sprzęgających w modyfikacji HAP, który jest przedmiotem zgłoszenia patentowego.

Ogólna charakterystyka rozprawy

Rozprawa doktorska mgr inż. Anny Krokos została przygotowana, w układzie standardowym, typowym dla prac doktorskich. Po wprowadzeniu znajduje się część przedstawiająca stan wiedzy w przedmiocie badań, po której następuje prezentacja celu i zakresu badań, opis materiałów i metod badawczych, prezentacja i analiza uzyskanych wyników, a także rozdział zawierający podsumowanie i wnioski.

Recenzowana rozprawa doktorska liczy 179 stron i podzielona jest na sześć głównych części obejmujących: przegląd stanu wiedzy i techniki (42 strony), założenia i cel pracy (2 strony), metodologię badawczą (stron 18), badania własne z dyskusją wyników (73 strony), wnioski końcowe (3 strony) oraz spis cytowanej literatury wraz z opisem dorobku naukowego Doktorantki (21 stron). Spis cytowanej literatury obejmuje 198 pozycji i uwzględnia aktualne publikacje naukowe związane z obszarem tematycznym rozprawy.

Cześć teoretyczna dysertacji obejmuje przegląd stanu wiedzy na temat tkanki kostnej, jej budowy, funkcji jak również temat materiałów implantacyjnych. Rozdział 3. dotyczy materiałów polimerowych, w którym skupiono się i przedstawiono informacje w zakresie poli(L-



laktydu) oraz poli(L-laktyd-co-glikolidu), opisując metody syntezy, strukturę oraz właściwości fizykochemiczne.

W rozdziale nr 4 „Biomateriały ceramiczne” Doktorantka opisała budowę, właściwości oraz zastosowanie fosforanów wapnia, w tym hydroksyapatytu, TCP, DCPA i DPCD, cementów kostnych. Ponadto zawarto syntetyczny opis bioaktywnego szkła. Kolejny rozdział to zbiór informacji w zakresie kompozytów polimerowo-ceramicznych z uwzględnieniem technik ich formowania. Doktorantka również omówiła modyfikację powierzchni cząstek ceramicznych, skupiając się na aminokwasach L-lizynie, silanach, poli(dopaminie). Na zakończenie zawarto opis technologii druku 3D.

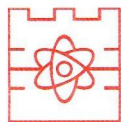
Przegląd literaturowy zwięźcza wskazuje cel pracy oraz hipotez badawczych dysertacji. Jako główny cel pracy wskazano opracowanie nowych materiałów mających potencjalne zastosowanie w inżynierii tkanki kostnej. Został on dosyć ogólnie sformułowany.

Jako zadania cząstkowe realizowanej pracy doktorskiej, które mają doprowadzić do osiągnięcia celu głównego wskazano m.in. modyfikację powierzchni HAP L-lizyną, poli(dopaminą), PEG; funkcjonalizację cząstek bioszklą dotowanych cynkiem i strontem przy użyciu prekursora silanowego i L-lizyny, wytworzenie kompozytów w postaci folii ze zmodyfikowaną ceramiką z zastosowaniem metody wylewania z rozpuszczalnika, wytworzenie mikrosfer z PLLA i PLLA/HAP, druk 3D past kompozytowych CPC/PLLA.

Uważam, że przedstawiona w pierwszej części rozprawy analiza stanu techniki stanowiła dobrą podstawę do rozpoczęcia badań. Mimo nielicznych skrótów myślowych przyjętych przez Autorkę można stwierdzić, że wywiązała się z tego zadania z powodzeniem. W opinii recenzenta przegląd literatury byłby pełniejszy przy uwzględnieniu doniesień literaturowych dla wszystkich proponowanych modyfikatorów, zabrakło opisu dla poli(glikoli etylenowych), uzasadniających ich zastosowanie w badanych Doktorantki. Przydatne w zapoznawaniu się z treścią dysertacji byłoby zamieszczenie tabeli z wykazem skrótów i oznaczeń. Wskazane mankamenty mają jedynie charakter redakcyjny i nie wpływają negatywnie na ogólny odbiór pracy.

Ocena merytoryczna

Przedstawiona praca doktorska mgr inż. Anny Krokos obejmuje dwa wątki. Pierwszy to modyfikacja ceramiki i zastosowanie jej w foliach kompozytowych otrzymanych metodą wylewania z rozpuszczalnika, natomiast drugi obejmuje wytworzenie mikrosfer z PLLA



i układów PLLA/HAP oraz zastosowanie ich w cementach kostnych do druku 3D metodą wytłaczania.

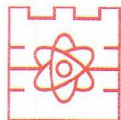
Do charakterystyki otrzymanych materiałów w postaci folii wykorzystano szereg metod instrumentalnych takich jak m.in. spektroskopia w podczerwieni FTIR, mikroskopia optyczna i skaningowa mikroskopia elektronowa SEM, skaningowa kalorymetria różnicowa DSC, analiza termogravimetryczna TGA, pomiar kąta zwilżania. W pracy bardzo szeroko oceniono również oddziaływanie materiałów komórkami w testach: test cytotoksyczności MTT, test prozapalny THP1-Blue™ NF-κB, test LDH. Natomiast do charakterystyki rusztowań, mikrosfer oraz past CPC/PLLA zastosowano ICP-OES, maszynę wytrzymałościową, suchą spektroskopię dyfrakcji laserowej do określenia wielkości i rozkładu cząstek, wykonano badania reologiczne, mikroskopowe i biologiczne.

Generalnie metody badawcze zostały odpowiednio dobrane do celu i zakresu pracy doktorskiej z kilkoma uwagami, które zostaną poruszone w kwestiach do wyjaśnienia przez Doktorantkę.

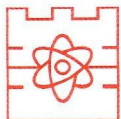
Dyskusja wyników badań własnych została podzielona na dwa obszary, gdzie przedstawiono szczegóły w zakresie prowadzonych prac eksperymentalnych, a każdy z obszarów badawczych został zwieńczony podsumowaniem i wnioskami.

Ogólnie praca została przygotowana w sposób jasny i czytelny, a materiał badawczy jest obszerny. Nie mam zastrzeżeń co do sposobu opracowania i przygotowania dysertacji. Strona graficzna jest poprawna. Przedstawione rysunki, wykresy i tabele są czytelne, również strona językowa dysertacji jest poprawna. Po wnikliwym zapoznaniu się z rozprawą doktorską stwierdzam, że przedstawiony materiał jest wartościowy i wnosi wiele istotnych informacji w zakresie modyfikacji ceramiki i zastosowania jej w kompozytach z polil(L-laktydem) z przeznaczeniem do zastosowań w inżynierii tkanki kostnej. Ogólnie, nie mam zastrzeżeń odnośnie przyjętych metodyk badawczych, sposobu wykonania eksperymentów, przedstawienia i dyskusji uzyskanych wyników. Uważam także, że przedstawiony w pracy problem badawczy został sformułowany poprawnie, a postawione cele zostały w większości osiągnięte. Materiał przedstawiony w poszczególnych rozdziałach stanowi ciekawe opracowanie.

Wyniki badań stanowią obszerny materiał o charakterze aplikacyjnym i dobrze korelują z założonym celem i koncepcją pracy. Doktorantka pomimo dużej staranności nie uniknęła w swojej pracy merytorycznych mankamentów wymagających zwrócenia uwagi recenzenta, które jednak mają charakter dyskusyjny i nie umniejszają wartości naukowej dysertacji. Chciałabym, aby Doktorantka odniosła się do następujących kwestii:



1. Czy Doktorantka stosowała w swoich badaniach metody planowania eksperymentu? Na podstawie jakich założeń wytypowano wstępne stosunki molowe reagentów i składy kompozytów.
2. Doktorantka w pracy ujęła dwa zupełnie inne typy materiałów folie kompozytowe otrzymanych metodą wylewania z rozpuszczalnika oraz cemeny kostne do druku 3D metodą wyłaczania. Obie części są niezależne i nie występuje pomiędzy nimi zależność przyczynowo-skutkowa, dlaczego Doktorantka zdecydowała się połączyć w pracy akurat te dwa obszary.
3. Doktorantka poddawała HAP modyfikacjom polegającym na przyłączaniu m.in. L-lizyny, jaka była wydajność reakcji przyłączenia.
4. Na str. 64 doktorantka opisuje bioszkieło zastosowane w badaniach, w tabeli nr 2 wskazano uziarnienie oraz skład, proszę o wyjaśnienie jak przeprowadzono analizę uziarnienia oraz jak określono skład tlenkowy bioszkieła. Proszę o wskazanie jak była atmosfera obróbki cieplnej o której jest mowa na tejże stronie.
5. Doktorantka w części eksperymentalnej wskazuje, że cząstki BG modyfikowane L-lizyną stanowiły wypełniacz do kompozytów na bazie poli(adypinianu glicerolu), natomiast dysertacja nie obejmuje badań w tym zakresie.
6. Doktorantka przeprowadzała samodzielnie polimeryzację do poli(dopaminy), proszę o wyjaśnienie dlaczego zrezygnowano z oznaczenia rozkładu masy cząsteczkowej dla otrzymanego polimeru np. z zastosowaniem chromatografii żelowej.
7. Doktorantka zaproponowała w pracy otrzymywanie materiałów w postaci folii, jakie jest przewidywane zastosowanie tych materiałów w inżynierii tkanki kostnej?
8. W pracy zastosowano sterylizację materiału z użyciem sterylizatora parowego oraz zanurzenie w 70% roztworze EtOH. Jak dobierano metodę sterylizacji, dlaczego nie wzięto pod uwagę najpowszechniej stosowanej sterylizacji radiacyjnej. Czy para wodna w podwyższonej temperaturze nie spowodowała degradacji materiału?
9. Dla wydrukowanych rusztowań wyznaczono moduł sprężystości oraz wyznaczono wytrzymałość na ściskanie, nie zaplanowano badań zginania, dlaczego zrezygnowano z tego, biorąc pod uwagę przyszłe zastosowanie materiału.
10. Na str. 81 Doktorantka przedstawiła widma FT-TR m.in. dla hydroksyapatytu, w których obecne są pasma pochodzące od drgań wiązania C-O przy liczbie falowej: 877,1412,1456,1548 cm^{-1} , które Autorka przypisała grupie CO_3^{2-} . Biorąc pod uwagę, że w badaniach zastosowano HAP komercyjny firmy Sigma Aldrich, proszę o wyjaśnienie skąd pochodzą wskazane grupy węglanowe, czy przeprowadzono

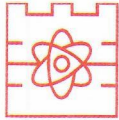


dotatkową modyfikację proszku ceramicznego wprowadzając CO_3^{2-} ? Czy zidentyfikowano, w które miejsce w strukturze HAPu zostały wbudowane grupy węglanowe; w pozycje $-\text{OH}^-$ lub/i PO_4^{3-} ?

11. Doktorantka przeprowadziła badania inkubacyjne w symulowanym płynie ustrojowym SBF. Dla kompozytów PLLA z HAP modyfikowanym L-lizyną zaobserwowano degradację i ubytek masy w przypadku kompozytów PLLA z HAP modyfikowanych poli(dopaminą) zaobserwowała przeciwną tendencję zwiększenia masy, wskazując na proces mineralizacji na powierzchni próbki. Czy na powierzchni pierwszego z tych materiałów również zachodził proces wytrącania warstwy mineralnej czy tylko dla drugiego materiału? Czy zidentyfikowano jaka warstwa mineralna się tworzy i jaka jest jej morfologia?
12. Na jakiej podstawie Doktorantka porównuje i określa gładkość struktury, nie przeprowadzono badań chropowatości, topografii powierzchni, zdjęcia mikroskopowe SEM nie są wystarczające do wyciągania jednoznacznych wniosków w tym zakresie.
13. Doktorantka jako jedną z hipotez badawczych wskazała „*Modyfikowane cząstki HAP z PEG poprawiają adhezję na granicy międzyfazowej polimer-napełniacz dzięki mieszalności PLLA i PEG*” jednakże w pracy nie odnalazłam badań dotyczących bezpośrednio adhezji i analizy granicy napełniacz-osnowa.
14. Nie jest jasna hipoteza dotycząca stabilności termicznej kompozytów PLLA z HAP modyfikowanym w kontekście druku 3D. Doktorantka otrzymywała te kompozyty w postaci folii, natomiast część pracy dotycząca druku 3D nie obejmowała badań z HAP modyfikowanym.

Ocena końcowa

Podjęty w rozprawie problem badawczy jest w pełni trafny i oryginalny, ma znaczenie zarówno poznawcze jak i praktyczne. Przyjęte przez Doktorantkę cele cząstkowe zostały zrealizowane w sposób poprawny. Przyjęte metody badawcze oraz forma przedstawienia wyników badań były poprawne. Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością wiedzy teoretycznej, metodologii badań oraz metod badawczych a także bardzo dobrym wykorzystaniem źródeł literaturowych. W podsumowaniu charakterystyki ogólnej pracy mgr inż. Anny Krokos należy stwierdzić, iż mimo uwag recenzenta posiada ona niezbędne elementy wymagane w rozprawach doktorskich. Reasumując, przedstawione wyżej uwagi i zapytania należy traktować raczej jako łatwe do usunięcia usterki, które nie obniżają wartości merytorycznej pracy i mogą być pomocne w przyszłej publikacji wyników pracy naukowej



Doktorantki. W podsumowaniu pragnę podkreślić, że sposób zaplanowania badań, forma przedstawienia wyników oraz ich analiza świadczą o wysokich kompetencjach naukowo-badawczych Doktorantki oraz o właściwym przygotowaniu Jej do pracy naukowej. Prezentowana praca wnosi istotny wkład w badania nad materiałami ceramiczno-polimerowymi do zastosowań w inżynierii tkanki kostnej.

Praca spełnia wymagania ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” oraz „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2014 r. wraz z późniejszymi zmianami i zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny „Nauki Chemiczne” na Politechnice Wrocławskiej z prośbą o dopuszczenie pani mgr inż. Anny Krokos do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę aktywność naukową Doktorantki, na którą składają się publikacje z listy JCR o znaczącym współczynniku oddziaływania oraz dojrzałość naukową o czym świadczy sposób napisania rozprawy doktorskiej, zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny „Nauki Chemiczne” Politechniki Wrocławskiej z wnioskiem o wyróżnienie.

Z poważaniem,



Faint text at the top right, possibly a date or reference number.

First main paragraph of faint, illegible text.

Second main paragraph of faint, illegible text.

Faint text at the bottom left, possibly a signature or name.