



Dr hab. inż. Czesława Paluszkiewicz Prof. IFJ
Instytut Fizyki Jądrowej Polskiej Akademii Nauk
Zakład Fizyki Doświadczalnej Układów Złożonych

Kraków, 10.06.2016

RECENZJA RACY DOKTORSKIEJ
Pani mgr inż. Mileny Supernak-Marczewskiej
„BIOAKTYWNE POWŁOKI CHITOZANOWE NA IMPLANTACH
TYTANOWYCH”

Podstawą formalną przedstawionej recenzji jest uchwała Rady Wydziału Mechanicznego Politechniki Gdańskiej oraz pismo (L.Dz.63/WM/2016) Pana Prodziekana Wydziału prof. dr hab. inż. Marka Szkodo z dnia 05.06.2016 roku.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Mileny Supernak –Marczewskiej została wykonana w Zespole Biomateriałów w Katedrze Inżynierii Materiałowej i Spajania Wydziału Mechanicznego Politechniki Gdańskiej, pod kierunkiem profesora dr hab. inż. Andrzeja Zielińskiego.

Praca dotyczy modyfikacji wierzchniej tytanu, poprzez pokrycie go powłokami chitozanowymi, w celu zwiększenia biogodności i aktywności biologicznej implantu. Celem przedstawionej rozprawy było opracowanie zależności biogodności i aktywności biologicznej zmodyfikowanego implantu od stopnia deacetylacji chitozanu jak również opracowanie technologii pokrywania metalu powłokami chitozanowymi.

Zagadnienia tej pracy łączą wiedzę z pogranicza chemii, fizyki powierzchni i mechaniki z procesami biologii komórki. Rozprawa w części wstępnej zawiera szeroki przegląd zagadnienia obejmujący dane literaturowe związane zarówno z chitozaniem, biomateriałami tytanowymi oraz czynnikami wpływającymi na funkcjonalność biomateriałów.



Początkowo Pani mgr inż. Milena Supernak –Marczewska w rozprawie doktorskiej omawia preparatykę, właściwości i degradację chitozanu oraz jego potencjalne zastosowanie medyczne w farmakologii, inżynierii tkankowej jak i implantologii. Następnie przedstawia biomateriały tytanowe określając ich podstawowe właściwości fizyczne i mechaniczne oraz biotolerancje w zależności od odporności korozyjnej. W kolejnym rozdziale Doktorantka szeroko opisuje czynniki mające istotny wpływ na funkcjonalność biomateriałów. Przedstawia wpływ pierwiastków w materiałach przeznaczonych na implanty na organizm człowieka, jak i właściwości mechaniczne i fizyczne implantowanych materiałów. Omawia również wpływ powierzchni biomateriałów na ich właściwości użytkowe oraz zjawiska zachodzące na granicy faz tj. komórka i materiał.

Wszechstronny przegląd literatury obejmujący w 80 procentach prace opublikowane po 2000 roku, stanowi uzasadnienie podjętej tematyki i wskazanie właściwego kierunku badań oraz może świadczyć o aktualności podjętego tematu w prezentowanej pracy.

Szeroko opisane zagadnienia pozwoliły Pani Supernak–Marczewskiej na sformułowanie tezy, określenie celu i zakresu pracy. Autorka uzasadnia podjęcie badań nad powłoką chitozanową, jako nową metodą inżynierii powierzchni w odniesieniu do implantów tytanowych. Ambitne zadania postawione przez Doktorantkę, obejmujące niezwykle trudne zagadnienia, wymagały interdyscyplinarnego podejścia do ich realizacji, co znalazło odzwierciedlenie w opisie części eksperymentalnej pracy.

W części doświadczalnej Doktorantka prezentuje dobór materiałów będących przedmiotem badań i ich preparatykę. Omawia przygotowanie powierzchni tytanu technicznego oraz preparatykę chitozanu o trzech różnych stopniach deacetylacji tj. DD87, DD87 sigma i DD94. W dalszej kolejności opisuje analizę topografii powierzchni wytworzonych powłok za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM), przedstawia badania zwilżalności powłok jak i pomiary morfologii powierzchni tytanu przy wykorzystaniu mikroskopu elektronowego wraz z analizą pierwiastków. Ponadto prezentuje nakładanie powłok chitozanowych na powierzchnie tytanu metodą zanurzeniową oraz ich neutralizację. Doktorantka opisuje również, w jaki sposób wytworzone materiały zostały poddane badaniom bioaktywności poprzez zasiedlenie komórek kościotwórczych typu MC3T3-E1.

Przedstawia szczegółowo hodowlę komórek w laboratorium mikrobiologicznym oraz badania proliferacji komórek typu MC3T3-E1 do powierzchni wytworzonych wcześniej biomateriałów.



Stopień pokrycia próbek tytanowych powłokami chitozanowymi został oceniony w realizowanej pracy na podstawie testu z wykorzystaniem czerwieni alizarynowej natomiast charakterystykę zacierania próbek w zależności głębokości i tarcia od czasu opracowano na podstawie wykonanych nanotribotestów.

Wyniki swoich badań Pani dr inż. Milena Supernak –Marczewska zaprezentowała w swojej rozprawie doktorskiej w sposób niezwykle zwięzły, ilustrując je 4 tabelami i 21 rysunkami. Istotne dla oceny, jakości wytworzonych powłok były badania ich właściwości. Autorka zaprezentowała ocenę topografii powierzchni powłok chitozanowych o różnym stopniu deacetylacji. Wykazała, że badane powłoki są do siebie zbliżone.

Opisała zwilżalność membran chitozanowych na podstawie wyników pomiarów ich kąta zwilżania uzasadniając, że analizowane powłoki wykazują właściwości hydrofobowe. Oceniała morfologię powierzchni warstwy tlenkowej tytanu stosowanego, jako podłoże pod powłoki chitozanowe, wykorzystując obrazy z mikroskopu skaningowego wraz z analizą składu chemicznego. Udowodniła, że uzyskana struktura warstwy tlenkowej na tytanie jest jednorodna.

Pani dr inż. Milena Supernak–Marczewska zilustrowała wzrost komórek typu MC3T3-E1 po 24, 72 i 96 godzinach hodowli na badanych powłokach. W badaniach *in vitro* określiła szybkość proliferacji komórek w zależności od typu chitozanu jak i badanego podłoża. Doktorantka przedstawiła wyniki testu obecności oraz jakości powłok na podłożu metalowym na podstawie ich wybarwienia czerwienią alizarynową i charakterystyki badania odporności na zacieranie.

Spośród wielu aspektów pracy istotnych w zakresie podjętej tematyki, na szczególną uwagę zasługuje dyskusja podjęta przez Doktorantkę na temat oceny możliwości wytwarzania powłok chitozanowych na podłożu tytanowym. Autorka przekonuje, że w przeciwieństwie do często stosowanych sposobów z wykorzystaniem reakcji silanowania wiązania chitozanu do powierzchni tytanu, metoda zanurzeniowa zastosowana przez Doktorantkę jest efektywna. Ponadto podkreśla, że metoda ta jest tania i bezpieczna, ponieważ nie stosuje się w niej potencjalnie toksycznych dla żywego organizmu odczynników.

Autorka pracy przekonuje, że mechanizm otrzymywania powłok chitozanowych jest silnie uzależniony od stanu powierzchni tytanu.



Podkreśla, że zbyt duża chropowatość biomateriału wpływa niekorzystnie na reakcje pomiędzy metalem i kością. Przeciwnie, powierzchnie potencjalnych implantów o małej chropowatości posiadają wystarczającą adhezję do podłoża.

Doktorantka wyjaśnia, że wykorzystanie chitozanu o różnym stopniu deacetylacji nieznacznie wpływa na chropowatość wytworzonych membran, ponieważ struktury przestrzenne tego materiału są do siebie zbliżone. Uzasadnia, że o chropowatości wytworzonego biomateriału decyduje głównie topografia podłoża. Analizując wpływ stopnia deacetylizacji chitozanu jak i jego pochodzenie Pani dr inż. Milena Supernak–Marczewska przekonuje, że pochodzenie materiału ma wpływ na jego biogodność.

Uzyskana przez autorkę lepsza odpowiedź komórkowa chitozanu pochodzącego z pancerzy krewetek (o stopniach deacetylacji DD87 i DD94) wskazuje na większą przydatność tego materiału w medycynie. Słabsze zasiedlenie komórek na powierzchni membrany chitozanej pochodzącej z krabów (DD87 sigma) Doktorantka tłumaczy mniejszą masą cząsteczkową oraz inną liczbą grup polarnych. Równocześnie autorka podkreśla wpływ konformacji chitozanu jak i ułożenie grup polarnych w tym związku na jego właściwości biologiczne, co może być przedmiotem dalszych badań Doktorantki.

Oceniając możliwości i celowości zastosowania powłok chitozanowych na implanty tytanowe Pani dr inż. Milena Supernak–Marczewska przekonuje, że uzyskany przez autorkę biomateriał może przyczynić się do szybkiego procesu osseointegracji z tkanką kostną. Chitozan, jako materiał nietoksyczny i biodegradowalny oraz bakteriobójczy może być w pełni wykorzystany w inżynierii powierzchni wszczepów tytanowych przeznaczonych na implanty przenoszące obciążenia.

Przedstawiona praca została zredagowana starannie, a błędy, czy niezręczności stylistyczne należą do rzadkości np.

na stronie 8 zamiast „...gllukopiranozy” należało napisać „glukopiranozy”,

na stronie 21 zamiast „...wpływ pierwiastków stopowych na przemianę alotropową tytany..” należy poprawić na „... pierwiastków stopowych na przemianę alotropową tytanu”.

W spisie skrótów na stronie 5 brak opisu CVD i PVD oraz DLC i NCD.

Podczas czytania rozprawy nasunęło mi się spostrzeżenie, że Autorka nie precyzuje jednoznacznie ilości wykonanych i przebadanych powłok, umniejszając tym samym niewątpliwie duży wkład pracy własnej w badaniach laboratoryjnych.



Oceniając całość rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Mileny Supernak –Marczewskiej uważam, że cel pracy został jasno sformułowany i uzasadniony. Omówione pozycje literaturowe były zgodne z profilem pracy jak i jej zakresem. Uzyskane rezultaty badań są istotne i mają wartość aplikacyjną, umożliwiając zastosowanie w praktyce powłok chitozanowych przebadanych w pracy w skali laboratoryjnej. **Na podkreślenie zasługuje szeroko przeprowadzona dyskusja wyników jak również sposób ich interpretacji wraz z prawidłowo sformułowanymi wnioskami. Rozprawa doktorska została napisana w sposób wyjątkowo esencjonalny, poprawnie językowo i stylistycznie.** Pani mgr inż. Milena Supernak–Marczewska wykazała niezbędną wiedzę i umiejętności samodzielnego rozwiązywania postawionych przed nią zadań i problemów naukowych oraz poprawnego wyciągania wniosków. Przedstawione wyżej uwagi mają charakter porządkowy i nie obniżają wysokiej wartości poznawczej jak również aplikacyjnej recenzowanej pracy doktorskiej Pani mgr inż. Mileny Supernak–Marczewskiej. Doktorantka zaproponowała w pracy kompleksowy oraz interdyscyplinarny program badań, przeprowadziła wnikliwe pomiary poparte przekonującą dyskusją uzyskanych wyników. Recenzowana rozprawa posiada wiele elementów nowości naukowej i poszerza wiedzę z zakresu otrzymywania powłok na podłożach metalicznych.

Uważam, że oceniana praca zatytułowana „Bioaktywne powłoki chitozanowe na implantach tytanowych” spełnia wymagania stawiane przez Ustawę o stopniach i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki i zgodnie z artykułem 13 ustęp 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) może być przedstawiona, jako rozprawa doktorska. Dlatego też wnoszę do Rady Wydziału Mechanicznego Politechniki Gdańskiej wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Mileny Supernak –Marczewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę wysoką wartość naukową, jak i szeroki zakres przeprowadzonych badań proponuję Radzie Wydziału Mechanicznego Politechniki Gdańskiej wyróżnienie przedstawionej rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Mileny Supernak –Marczewskiej.

dr hab. inż. Czesława Paluszkiewicz