

dr hab. inż. Jerzy Myalski, prof. Pol. Śl.
Wydział Inżynierii Materiałowej i Metalurgii
Katedra Zawansowanych Materiałów i Technologii
Politechnika Śląska, Katowice

Katowice, 02.10.2023 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Klaudii Grzywnowicz pt. „Synteza oraz charakterystyka modyfikowanych biomateriałów polimerowych w medycynie regeneracyjnej”,

której promotorem jest dr hab. Krzysztof Jasik,
a promotorem pomocniczym dr hab. Andrzej Swinarew

Recenzja opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej Instytutu Inżynierii
Materiałowej Uniwersytetu Śląskiego z dn. 12.07.2023

Nowe metody syntezy surowców, rozwój metod przetwórstwa, możliwość modyfikacji budowy i składu chemicznego polimerów, przyczyniły się do zwiększenia różnorodności produktów stosowanych w medycynie. Są to już nie tylko wyroby przeznaczone do kontaktu zewnętrznego, a coraz częściej implanty stosowane w chirurgii, kardiochirurgii, chirurgii szczękowej, ortopedii czy nośniki leków. Wymagania warunkujące wykorzystanie nowych rodzajów tworzyw polimerowych w branży medycznej dotyczą nie tylko właściwości fizykochemicznych, ale wymagają również funkcjonalizacji zapewniającej wyrobom i implantom ochronę mikrobiologiczną.

Funkcjonalizacja polimerów biomedycznych pod kątem zwiększenia oddziaływania biostatycznego lub biobójczego uzyskiwana jest poprzez aktywowanie powierzchni polimeru, zmianę jego składu chemicznego, wprowadzenie w strukturę polimeru aktywnych chemicznie związków antymikrobowych. Obejmujące ochronę mikrobiologiczną polimerów zagadnienia są przedmiotem bardzo intensywnych i w szerokim zakresie prowadzonych badań materiałowych i klinicznych. Zatem tematyka przedstawionej do zaopiniowania rozprawy doktorskiej jest aktualna i ważna. Podjęte w niej badania związane są z możliwością zastosowania nowej grupy materiałów polimerowych przydatnych do wytwarzania implantów chrzęstnych i kostnych mogą przyczynić się do poszerzenia wiedzy odnośnie materiałów wykorzystywanych na implanty.

Podjęte w pracy problemy badawcze były ukierunkowane na opracowaniu składu chemicznego materiałów polimerowych zawierających różne dodatki antybakteryjne, w tym

nowy rodzaj komponentu funkcjonalnego jakim była betulina. Wykorzystanie zatem dotychczas nie stosowanej w tym celu betuliny wymagało opracowania zarówno procesów jej pozyskiwania, a także bardzo istotnych z punktu widzenia inżynierii materiałowej problemów połączenia osnowy polimerowej i fazy modyfikującej gwarantujących produktowi wysoką jakość i łatwość formowania wyrobów medycznych.

Ocena redakcyjnej formy rozprawy

Przedłożona do oceny praca doktorska jest klasycznym przykładem tego rodzaju opracowań. Składa się z 169 stron podzielonych na 8 zasadniczych rozdziałów, krótkiego streszczenia w j. polskim i angielskim, spisów literatury, rysunków, tabel i załączników ujętych w 4 kolejnych rozdziałach. Praca jest bogato ilustrowana wykresami, rysunkami, stabelaryzowanymi danymi pomiarowymi, które zaprezentowano w postaci 78 rysunków i 39 tabel. Rozprawa jest stylistycznie poprawna, napisana w sposób jasny i przejrzysty. Niestety w pracy nie zawsze stosowana jest właściwa terminologia i ujednolicone nazewnictwo, a także niekonsekwentne zapisy przyjętych skrótów jednostek, określeń i nazw. Dotyczą one najczęściej przyjętych niewłaściwych określeń np. struna zamiast filament, nieprecyzyjnych pojęć typu „obróbka cieplna”. W pracy pojawiły się również błędy podczas przeliczenia jednostek i pomyłki przy zapisie danych. Podane na podstawie literatury właściwości sprężyste tkanek chrzęstnych dane są niepoprawne i wymagają weryfikacji.

Przedstawione w 3 podrozdziałach studium literaturowe oparte zostało na podstawie 147 pozycji źródłowych, opisujących problematykę wykorzystania materiałów polimerowych do zastosowań biomedycznych. W analizie literaturowej scharakteryzowano historię rozwoju biomateriałów, zdefiniowano podstawowe pojęcia i wymagania jakie muszą spełniać. Bardzo szczegółowo scharakteryzowano właściwości różnych rodzajów polimerów mogących mieć zastosowanie w medycynie i stomatologii. Zawarte w tej części analizy literaturowej informacje mogły być pominięte, gdyż zawierają niezbyt ważne z punktu widzenia tematyki rozprawy informacje odnoszące się do właściwości i technologii polimerów. W drugiej części przeglądu literaturowego przedstawiono aktualne trendy i działania odnośnie pozyskiwania i wdrażania nowych rodzajów polimerów oraz dodatków funkcjonalnych powszechnie stosowanych jako antyoksydanty, dodatki antymikrobowe, nośniki leków czy modyfikatory genetyczne białek. Szkoda, że ta analiza odnosi się w głównej mierze do dodatków funkcjonalnych wykorzystanych na potrzeby pracy.

Na podstawie przeglądu literaturowego sformułowane zostały założenia i cel pracy. Zakładają one, że odpowiednio prowadzona synteza pozwoli na uzyskanie materiałów

o wymaganych, nie zmieniających właściwościach fizykomechanicznych oraz mikrobiologicznych dostosowanych do procesów formowania implantów dedykowanych indywidualnym pacjentom. W rozprawie doktorskiej starano się udowodnić kilka hipotez badawczych. Przyjęte hipotezy są raczej stwierdzeniami odnoszącymi się do zastosowania określonych dodatków zapewniających uzyskanie materiałów zapobiegających rozwojowi drobnoustrojów i komórek nowotworowych. Nie sprecyzowano w nich wpływu rodzaju dodatku, jego udziału i morfologii na właściwościami mechaniczne i chemiczne czy czynników wpływających na adaptację opracowanych kompozytów przeznaczonych na implanty lub rusztowania chrzęstno - kostne.

W części eksperymentalnej przedstawiono problemy badawcze oraz metodykę badań zastosowaną do ich rozwiązania. Opisano poszczególne etapy wytworzenia próbek do badań. Działania te były związane z technologią pozyskania komponentów użytych do modyfikacji właściwości funkcjonalnych (betulina, krzemionka, nanosrebro), technologią syntezy komponentów z osnową poliwęglanową oraz metodę wytwarzania próbek do badań. Bardzo szczegółowo opisano metodykę wykorzystanych w pracy badań instrumentalnych. Uzyskane wyniki badań i ich omówienie zawarto w dwóch kolejnych rozdziałach. Wyniki badań zostały przedstawione w postaci wniosków uzasadniających i weryfikujących przejęte hipotezy badawcze.

Ocena merytoryczna rozprawy

Rozprawę należy potraktować jako wstępną próbę analizy wpływu różnego rodzaju dodatków antybakteryjnych na właściwości fizykochemiczne i antydrobnoustrojowe materiałów polimerowych wykorzystywanych w medycynie rekonstrukcyjnej. W prowadzonych badaniach uwzględnione zostały czynniki warunkujące wytworzenie implantów w technologii druku przyrostowego typu 3D.

W pierwszym etapie części eksperymentalnej Doktorantka skoncentrowała się nad pracami pozyskiwania dodatków funkcjonalnych, i ich przygotowaniu do postaci ułatwiającej domieszkowanie. Dodatkiem, który miał poprawić właściwości była nie wykorzystywana w tym celu betulina. Dla porównania właściwości fizykomechanicznych i bakteriobójczych polimerów zmodyfikowanych betuliną, dodatkowo zostały zastosowane dwa inne częściej stosowane jako dodatki antybakteryjne materiały tj. nanosrebro i nanokrzemionka. Na potrzeby pracy Doktorantka opracowała technologię pozyskiwania betuliny z kory brzoźowej. W pracy nie podano jednakże szczegółowej charakterystyki zastosowanej betuliny a także pozostałych dodatków funkcjonalnych. Podano jedynie dane odnośnie wielkości

ziaren nanosrebra. Brakuje charakterystyki granulometrycznej dla betuliny oraz nanokrzemionki. Wielkość ziaren, ich kształt może wpływać na homogeniczność rozmieszczenia dodatku w kompozycie i decydować o jego właściwościach. Z obrazu ziaren nanokrzemionki, przedstawionym na rys. 20 wynika, że wielkość ziaren zmienia się od kilku do kilkudziesięciu mikrometrów. Może to świadczyć tym, że zilustrowano raczej ziarna aglomeratów, a nie obiekty o nanometrycznej wielkości. Jeżeli są to ziarna, to nie powinno się używać określenia nanokrzemionka.

Ważną grupą działań, na etapie przygotowania materiałów do badań, były prace związane uzyskaniem dobrego połączenia pomiędzy materiałami osnowy polimerowej i funkcjonalnych napełniaczy. Dobre jakościowo połączenie komponentów wytworzono poprzez zastosowanie modyfikatora jakim był cykliczny heksametr glicydolanu potasu, określany mianem polioliu. Wymagało to doboru składu chemicznego kompozycji, warunków syntezy i przygotowania kompozycji do postaci ułatwiającej połączenie polimeru z dodatkiem funkcjonalnym. W kompozycjach użyto od 0,2 do 1,6 % cz.mas polioliu w stosunku do masy polimeru. Proces przygotowania próbek do badań wymaga jednak dodatkowych wyjaśnień, w których należałoby uzasadnić zróżnicowanie odnośnie zmieniającej się ilości polioliu w zależności od rodzaju zastosowanego komponentu. Dla kompozytów zawierających krzemionkę i nanosrebro, była to wartość prawie ośmiokrotnie większa niż dla kompozytu zawierającego 1% betuliny. W pracy brakuje danych odnośnie zawartości polioliu zastosowanego do wytworzenia kompozytów zawierających 5 i 10% betuliny. Uzasadnienie przyczyn zróżnicowania zawartości polioliu w polimerze, w zależności od rodzaju modyfikatora, jest ważne z punktu widzenia także właściwości mechanicznych kompozytu. Polioliol zapewniający jakościowo dobre połączenie pomiędzy komponentami pełnić może również funkcję plastyfikatora. Mogą to potwierdzić wyniki badań wytrzymałościowych. Analizując wartości naprężenia i odkształcenia różnych rodzajów badanych kompozycji zawierających betulinę, nanosrebro lub krzemionkę, można zauważyć że większa ilość polioliu powoduje spadek wytrzymałości i wzrost wydłużenia. Przykładowo dla kompozytu zawierającego nanosrebro lub krzemionkę z ilością polioliu wynoszącą 1,6%, jest to wartość dwukrotnie mniejsza, niż dla kompozytu zawierającego betulinę z 0,2 % dodatkiem polioliu. Natomiast odkształcenie towarzyszące zniszczeniu jest prawie trzykrotnie większe, w porównaniu do polimeru zawierającego 0,2 % polioliu.

Z przygotowanych kompozycji, zawierających różne rodzaje komponentów, wytworzono w procesie wytłaczania półprodukty (filamenty), które posłużyły do wykonania próbek do badań.

Do udowodnienia przyjętych hipotez i stosownie do nich, opracowany został bardzo szeroki interdyscyplinarny program badań. Obejmowały one pomiar właściwości mechanicznych, chemicznych i mikrobiologicznych. Wybór tak zróżnicowanych metod badawczych podyktowany był wymaganiami jakie są stawiane materiałom i wyrobom mających zastosowanie w medycynie rekonstrukcyjnej.

Zastosowana metodyka badawcza miała na celu określenie wpływu budowy i struktury na uzyskane właściwości, ustalenie zależności i reakcji zachodzących pomiędzy komponentami, na różnych etapach technologii wytwarzania komponentów i próbek do badań. Ponadto w zrealizowanych badaniach starano się pozyskać informacje odnoszące się do zmian w strukturze i właściwościach wywołanych podwyższoną temperaturą zastosowaną podczas wydruku materiałów i próbek do badań.

Na wyróżnienie zasługuje wykorzystanie wzajemnie uzupełniających się metod analizy chemicznej, opartych nie tylko na powszechnie wykorzystywanych badaniach spektroskopii w podczerwieni, chromatografii, ale również bardziej zaawansowane metody spektrometrii mas, chromatografii wykluczenia czy metod fluorymetrycznych.

Wyniki badań właściwości mechanicznych wskazują, że zaproponowana technologia przygotowania i wytworzenia kompozytów zapewnia uzyskanie homogenicznego rozmieszczenia dodatków funkcyjnych. Potwierdzeniem równomiernego rozmieszczenia cząstek modyfikujących może być niewielki rozrzut wyników badań wytrzymałości na rozciąganie i udarność. Ze względu na w pracy brak danych eksperymentalnych odnoszących właściwości się do osnowy polimerowej, można jedynie przypuszczać, że zastosowane dodatki antymikrobowe i środki sprzęgające, będą obniżały jej właściwości mechaniczne. Z zastosowanych dodatków największą wytrzymałością na rozciąganie cechował się materiał z dodatkiem 1% betuliny. Mniejsze, ale porównywalne ze sobą wartości wytrzymałości zarejestrowano dla materiałów zawierających nanosrebro lub krzemionkę.

Zamieszczone w pracy wyniki pomiarów modułu sprężystości zostały wyznaczone niewłaściwie i nie można na ich podstawie charakteryzować właściwości sprężystych. Wyjaśnienie, że zakres odkształceń sprężystych i plastycznych w poszczególnych materiałach, jest porównywalny i nie zróżnicowany jest niewystarczające. Przyjęcie założenia, że na tej podstawie można obliczać moduł jako stosunek maksymalnego naprężenia i towarzyszącego mu wydłużenia jest niepoprawne. Wskazują na to wyniki próby statycznego rozciągania. Analizując wyniki badań można zauważyć, że odkształcenia do zniszczenia są prawie trzykrotnie większe dla polimerów z krzemionką oraz nanosrebrem, w porównaniu z polimerem zawierającym betulinę. Zatem krzywe muszą być inny przebieg, co

całkowicie zmienia charakter krzywej rozciągania. Należy zaznaczyć, że moduł sprężystości wyznacza się tylko w zakresie odkształcenia sprężystego. Dodatkowo, przy wyznaczaniu modułu sprężystości polimerów należy uwzględnić ich zachowanie lepkosprężyste. Ogranicza to znacząco zakres odkształcenia sprężystego, w obszarze którego można wyznaczać moduł sprężystości. W przypadku polimerów obliczenie modułu sprężystości powinno być prowadzone w zakresie 0,1-0,4 odkształcenia względnego. Z tego powodu należy pominąć w analizie obarczone dużym błędem wyniki badań modułów sprężystości.

Wyniki badań chromatograficznych i spektroskopowych wykazały, że dodatki antybakteryjne w niewielkim stopniu zmieniają strukturę i budowę chemiczną kompozytów. Nie stwierdzono efektów oddziaływania pomiędzy osnową a dodatkami oraz tworzenia się pomiędzy nimi połączenia. Widma FT-IR są prawie identyczne, niezależne od rodzaju zastosowanego w kompozycie dodatku modyfikującego. Na ich podstawie stwierdzono, że na różnych etapach przygotowania materiałów do badań nie następowała zmiana zarówno składu fazowego kompozytu, a także degradacja struktury wywołana podwyższoną temperaturą formowania próbek do badań. Potwierdziło to użyteczny cel pracy jakim było założenie, że do wytworzenia implantów dedykowanych określonemu pacjentowi można zastosować technologię formowania przyrostowego 3D.

Szerszego omówienia wymagają wyniki badań chromatografii wykluczenia. W próbkach pomimo zróżnicowanej ilości betuliny i podobnej zawartości kwasu betulinowego poziom aktywności przeciwdrobnoustrojowej nie ulega zmianie. Natomiast dodatek betuliny zdecydowanie ogranicza cytotoksyczność i już jeden procent jej zawartości przeciwdziała negatywnemu oddziaływaniu z żywymi komórkami mysich fibroblastów. W analizie stanu zagadnienia podano, że za ograniczenie oddziaływania cytostatycznego wpływa głównie kwas betulinowy. Czy na tej podstawie można również przypuszczać, że na cytotoksyczność wpływ ma również betulina.

Brakuje uzasadnienia i wyjaśnienia hipotezy odnoszącej do wykorzystania nanosrebra i krzemionki jako dodatków antybakteryjnych. Wyjaśnienie zostało oparte na stwierdzeniu, że nanosrebro nie jest „wychwytywane” przez polioliol, co przyczynia się do słabszego niż oczekiwano oddziaływania nanosrebra z drobnoustrojami. W opisie metodyki badawczej nie w pełni podkreślono jak ważnym składnikiem w kompozycie jest polioliol i jego oddziaływanie z komponentami. Czy proces określany jako „wychwytywanie” może posłużyć się do uzasadnienia bardzo małej aktywności przeciwdrobnoustrojowej betuliny oraz czy aktywność może być wynikiem mniejszej zawartości polioliolu w materiale. W materiałach polimerowych zawierających betulinę zawartość polioliolu była prawie dziesięciokrotnie mniejsza niż dla

materiałów zawierających nanosrebro lub krzemionkę. Jeżeli porówna się wyniki wartości odporności bakteriobójczej materiału z bezwartością również prawie dziesięciokrotnie mniejszą.

Praca zawiera interesujące informacje odnoszące się do oddziaływania dodatków na właściwości cytostatyczne. Testy oceny aktywności antydrobnoustrojowej i cytotoksyczności (w zwartych w pracy badaniach realizowane były jedynie dla materiałów modyfikowanych betulina) wykazały, że materiały zawierające betulinę w niewielkim stopniu hamują aktywność przeciwdziałającą namnażaniu bakterii, ale w znaczący sposób ograniczają rozwój mysich komórek fibroblastów, nawet przy niewielkiej zawartości betuliny.

Przeprowadzony przez Doktorantkę ogromny program badań obejmujący przygotowanie komponentów, procesy syntezy, ocenę właściwości i mikrostruktury kompozytu. Pozwolił on określić wpływ dodatków antybakteryjnych na biokompatybilność i właściwości fizykochemiczne warunkujące wytworzenie nowych rodzajów materiałów na implanty chrzęstno-kostne. Zastosowanie aktywnych chemicznie dodatków zapewniło osiągnięcie zamierzonego celu pracy, jakim było zastosowanie badanych kompozytów w medycynie rekonstrukcyjnej. Doktorantce udało się opracować skład fazowy biokompatybilnych kompozytów polimerowych, określić parametry technologii ich wytwarzania oraz właściwości fizykochemiczne i biologiczne.

Podsumowanie

Rozprawę należy potraktować jako pierwszą próbę analizy procesów oddziaływania antybakteryjnego z wykorzystaniem nowego rodzaju dodatków bakteriobójczych. Wartością rozprawy jest w głównej mierze jej część doświadczalna oraz opracowana na potrzeby badań metodyka badawcza. Praca zawiera interesujące informacje dotyczące oddziaływania różnych grup dodatków antybakteryjnych na właściwości fizykochemiczne i biologiczne. W szczególności odnosi się to do przygotowania komponentów i modyfikacji osnowy poliwęglanowej. Znaczącym osiągnięciem Doktorantki były badania procesu ekstrakcji betuliny z kory brzoźowej. Równie ważne osiągnięcie dotyczy wytworzenia i wykorzystania polioliu jako kompatybilizatora zapewniającego dobre połączenie dodatków antybakteryjnych z poliwęglanem.

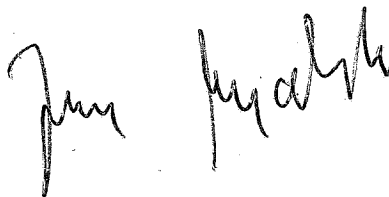
Jednak interpretacja i analiza uzyskanych wyników jest mało zadawalająca. Jest to w głównej mierze spowodowane chęcią pozyskania jak największej ilości informacji jednoznacznie wiążących technologię z właściwościami oraz udowodnienia przyjętych w pracy założeń

i celów. Tak duża ilość danych uzyskanych w badaniach utrudniła wnikliwą ich interpretację oraz analizę interdyscyplinarnych wyników badań.

Wniosek końcowy

Recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Klaudii Grzywnowicz stanowi obszerne i wartościowe opracowanie opisujące możliwości syntezy i kształtowania właściwości modyfikowanych bioaktywnymi dodatkami polimerów. Uzyskane wyniki badań stanowią oryginalny dorobek o dużym znaczeniu poznawczym i użytkowym. Doktorantka wykazała się wiedzą pozwalającą na zdefiniowanie problemu oraz umiejętnością realizacji szeroko zaplanowanych trudnych prac eksperymentalnych. Wykazała się zadowalającą umiejętnością samodzielnego prowadzenia prac naukowo-badawczych i opracowania uzyskanych wyników badań.

Pozwala to na stwierdzenie, że rozprawa doktorska mgr inż. Klaudii Grzywnowicz spełnia w dopuszczalnym stopniu podstawowe kryteria określone w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz Stopniach i Tytule w zakresie sztuki z dnia 14.03.2003 r. i późniejszymi zmianami zawartymi w art.179 ust.1 ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. z dn. 27.09.2017 r. poz.1789), i może zostać dopuszczona do publicznej obrony przed Radą Naukową Instytutu Inżynierii Materiałowej Uniwersytetu Śląskiego.



Wersja papierowa
wpłynęła 10.10.2023r.
pdr