



Zachodniopomorski
Uniwersytet
Technologiczny
w Szczecinie



Department of Polymer
and Biomaterials Science

Al. Piastów 45, 71-311 Szczecin, Poland

prof. dr hab. inż. Mirosława El Fray

tel: (+48) 91 499 48 28

fax: (+48) 91 499 40 98

Email: mirfray@zut.edu.pl

Ocena pracy doktorskiej Pani mag inż. **Urszuli Szałaj**

**pt. „Inżynieria nano-powłok hydroksyapatytowych
nanoszonych metodą ultradźwiękową na implanty
ortopedyczne”**

zrealizowanej pod kierunkiem promotora,
prof. dr hab. Witolda Łojkowskiego

w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych i w dyscyplinie inżynieria materiałowa

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej Dyscypliny
Inżynieria Materiałowa Politechniki Warszawskiej z dnia 24 listopada 2023.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została przygotowana w postaci monografii podzielonej na 7 rozdziałów zawartych na 185 stronach. Praca została zredagowana w sposób klasyczny, składający się z wprowadzenia poprzedzonego streszczeniami w języku polskim i angielskim oraz wykazem skrótów. W przeglądzie literaturowym liczącym 23 strony, Doktorantka przedstawiła aktualny stan wiedzy dotyczący tematyki implantów ortopedycznych i metod modyfikacji powierzchni implantów powłokami hydroksyapatytowymi (HAP). Dokonany przegląd literatury pozwolił Doktorantce na sformułowanie tezy badawczej i określenie celu pracy. W części poświęconej metodom badawczym, Doktorantka omówiła metodę hydrotermalnej syntezy mikrofalowej nanocząstek HAP i ultradźwiękowe osadzanie powłok HAP oraz omówiła metody wykorzystane do charakterystyki nanocząstek i powłok. W części eksperymentalnej Doktorantka omówiła właściwości otrzymanych nanocząstek HAP i

parametry procesu osadzania powłok. Zwieńczeniem przeprowadzonych badań było zbadanie wpływu nanopowłok na właściwości biologiczne materiałów, w tym adhezję, żywotność i proliferację osteoblastów. Na końcu opracowania Doktorantka przedstawiła dyskusję i podsumowanie uzyskanych wyników, które pozwoliły Jej na wyciągnięcie wniosków. Opracowanie zamyka spis literatury obejmujący 289 pozycji literaturowych oraz spis rysunków i tabel.

Niniejsza recenzja zawiera ocenę merytoryczną i naukową pracy doktorskiej w odniesieniu do aktualności i nowości podejmowanych zagadnień badawczych, umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych poprzez dobór metod badawczych i technik eksperymentalnych oraz umiejętności oryginalnego rozwiązania problemu naukowego.

Aktualność tematu pracy

Implanty stawów przenoszących duże obciążenia (stawu biodrowego, kolanowego) zrewolucjonizowały leczenie chorób i urazów ortopedycznych, w dużym stopniu dzięki stosowaniu odpowiednich materiałów, głównie metali, ceramiki i polimerów, które odpowiednio zaprojektowane tworzą funkcjonalny substytut naturalnych tkanek. Kluczową rolę w biologicznej reakcji organizmu na implant odgrywa jego powierzchnia, która od pierwszych sekund kontaktu z płynami ustrojowymi, komórkami i tkankami decyduje o integracji protezy i prawidłowym jej funkcjonowaniu. Dlatego też modyfikacja powierzchni implantów z wykorzystaniem różnych materiałów i technik jest często stosowanym w praktyce przemysłowej zabiegiem, który znacząco poprawia proces integracji ciała obcego (implantu) z tkankami pacjenta, przyspiesza przerastanie implantu nową tkanką kostną i przyczynia się finalnie do jego dobrej stabilizacji.

Doktorantka, na podstawie przeprowadzonego przeglądu literatury, przedstawionego na 20 stronach, wskazała na najważniejsze rodzaje ubytków kości i najczęściej stosowane ich syntetyczne substytuty, omawiając różne rodzaje ceramiki fosforanowo-wapniowej, w tym materiały o rozmiarach nanometrycznych, głównie nanohydroksyapatyt. Doktorantka omówiła również najważniejsze typy materiałów stosowanych do wytwarzania implantów ortopedycznych, w tym stal oraz tytan i jego stopy, biomateriały ceramiczne, gdzie oprócz fosforanów wapnia Autorka omówiła tlenek glinu i tlenek cyrkonu oraz biomateriały polimerowe, gdzie polietylen o ultrawysokiej masie cząsteczkowej i polieteroeteroketon stanowią najważniejsze przykłady. Doktorantka zwróciła również uwagę na polimery biodegradowalne, gdyż ich zdolność do degradacji w warunkach fizjologicznych jest ważną cechą wszędzie tam, gdzie mają one stanowić rusztowanie dla wzrostu i różnicowania komórek i tkanek, a produkty ich rozpadu mogą być bezpiecznie metabolizowane.

Doktorantka wykazała się również dobrym rozeznanie wśród metod modyfikacji powierzchni implantów powłokami hydroksyapatytowymi, z których wiele jest powszechnie stosowanych w przemyśle implantów ortopedycznych. Metody chemicznego i fizycznego osadzania z fazy gazowej (CVD, PVD), natryskiwania plazmowego (PTD), osadzania laserem impulsowym (PLD) lub metody zol-żel to tylko

niektóre z najczęściej stosowanych metod, które pozwalają na uzyskanie biozgodnych warstw sprzyjających osteointegracji. Doktorantka zwróciła szczególną uwagę na wykorzystanie metod ultradźwiękowych, które są wykorzystywane do syntezy nanomateriałów i ich osadzania na różnego rodzaju powierzchniach. Metoda opracowana w macierzystej jednostce Doktorantki, tj. w Instytucie Wysokich Ciśnień Polskiej Akademii Nauk i z Jej udziałem, jest unikatowa, że względu na niską temperaturę prowadzenia procesu (poniżej 100 °C) oraz brak konieczności wygrzewania powłoki. Powłoki takie są biozgodne w kontakcie z komórkami MG-63 i sprzyjają tworzeniu kości *in vivo*.

W oparciu o przeprowadzoną analizę stanu wiedzy, a co najważniejsze, po zidentyfikowaniu problemów do rozwiązania, Doktorantka zaplanowała i wykonała nowatorskie badania, których głównym celem było zoptymalizowanie warunków procesu ultradźwiękowego osadzania powłok hydroksyapatytowych na różnych materiałach stosowanych do wytwarzania implantów ortopedycznych (tytanowych, polimerowych i kompozytowych). Autorka skupiła się na wytworzeniu i ocenie właściwości nanopowłok hydroksyapatytowych, zwłaszcza w kontekście zróżnicowanej wielkości nanocząstek HAP. Do wytworzenia nanocząstek hydroksyapatytu wykorzystała metodę hydrotermalnej syntezy mikrofalowej (GoHAPmed), zaś osadzanie powłok nanocząstek hydroksyapatytu przeprowadziła wg. autorskiej metody SonoNanoCoating z wykorzystaniem ultradźwięków.

Analiza doboru technik eksperymentalnych i metodyk badawczych

Doktoranta w swoich pracach wykorzystała metodę hydrotermalnej syntezy mikrofalowej do wytwarzania nanocząstek GoHAPmed oraz autorską metodę SonoNanoCoating do osadzania powłok hydroksyapatytowych z wykorzystaniem ultradźwięków. Obydwie metody zostały opracowane w Instytucie Wysokich Ciśnień Polskiej Akademii Nauk, który jest macierzystą jednostką Doktorantki, co wskazuje na duży poziom oryginalności i nowatorstwa wykorzystanych technik eksperymentalnych. Stosując metodę GoHAPmed, Doktorantka wytworzyła sześć typów nanocząstek hydroksyapatytu różniących się stopniem krystaliczności i rozmiarem. Dzięki zastosowaniu stałych parametrów procesu SonoNanoCoating, takich jak amplituda dźwięków, temperatura zawiesiny i odległość od podłoża, Doktorantka mogła przy zmiennym stężeniu i wielkości nanocząstek przeprowadzać osadzanie warstw na różnych podłożach, takich jak płytki wykonane z tytanu Grade 2 i polieteroeteroketonu (PEEK), drukowane metodą druku 3 D podłoża tytanowe i kompozytowe (PCL/HAP/TCP), implanty kręgosłupa, śruby mocujące oraz implanty więzadła krzyżowego.

W celu scharakteryzowania wytworzonych nanocząstek Doktorantka zastosowała adekwatne metody, w tym dyfrakcję rentgenowską (XRD), adsorpcję BET oraz atomową spektroskopię emisyjną ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-OES).

Do scharakteryzowania wytworzonych powłok Doktorantka zastosowała skaningową mikroskopię elektronową (SEM) i pomiary kąta zwilżania metodą osadzonej kropli. Ze względu na zastosowanie różnorodnych podłoży, niezwykle ważną metodą badawczą było zastosowanie *scratch* testu w celu pomiaru siły adhezji nanocząstek

GoHAPmed do podłoża z zastosowaniem mikroskopu sił atomowych AFM. Przydatność wytworzonych powłok do celów medycznych Autorka oceniła na podstawie testów żywotności i proliferacji osteoblastów na drukowanych podłożach tytanowych. Drukowane podłoża kompozytowe (PCL/HAP/TCP) posłużyły natomiast do oceny żywotności i efektywności zasiedlania ich komórkami macierzystymi.

Zastosowane metody badawcze i techniki wytwarzania materiałów i powłok z ich wykorzystaniem są adekwatne do zaplanowanego programu badawczego i dobrze odzwierciedlają eksperymentatorski i poznawczy charakter recenzowanej pracy doktorskiej.

Elementy nowości w pracy

Jak już wcześniej wspomniano, Doktorantka przeprowadziła badania wytwarzania nanocząstek hydroksyapatytowych i nanoszenia z ich wykorzystaniem warstw na powierzchniach różnych materiałów i wyrobów medycznych. Zastosowała w tym celu dwie oryginalne metody opracowane w Instytucie Wysokich Ciśnień Polskiej Akademii Nauk, w tym metodę SonoNanoCoating, która jest Jej współautorską metodą. Interesującym i nowatorskim aspektem pracy doktorskiej Pani mgr inż. Szałaj jest nie tylko wytworzenie całej palety różnych typów nanocząstek o zdefiniowanej wielkości i stopniu krystaliczności, ale również wykorzystanie ich do nanoszenia powłok na podłożach z różnych materiałów wykorzystywanych do produkcji implantów jak i komercyjnie dostępnych implantowalnych wyrobów medycznych. Doktorantka wykazała, że rozwinięcie powierzchni właściwej nanocząstek GoHAPmed ma silny wpływ na rozpuszczalność oraz ilość wydzielanych jonów wapnia oraz zdolności sorpcyjne na powierzchni powłoki hydroksyapatytowej.

Ważnym osiągnięciem Doktorantki było opracowanie parametrów procesu SonoNanoCoating w celu uzyskania dobrej jakości powłok. Doktorantka wykazała, że na jakość wytwarzanych powłok hydroksyapatytowych ma wpływ amplituda drgań, temperatura zawiesiny, stężenie nanocząstek w medium, czas trwania procesu, wielkość nanocząstek i rodzaj podłoża. Doktorantka wykazała również, że zwiększenie wielkości nanocząstek osadzonych na różnego rodzaju podłożach powoduje obniżenie efektywności procesu SonoNanoCoating i pogorszenie jakości otrzymanych powłok. Obszerny program badawczy pozwolił Pani mgr inż. Szałaj na wyznaczenie optymalnych parametrów procesu, zwłaszcza dla nanocząstek o średniej wielkości od 10 nm do 14 nm. Doktorantka wskazała również, że dobra adhezja nanopowłok do podłoża może wynikać z dużego rozwinięcia powierzchni właściwej oraz działania sił powierzchniowych osadzanych nanomateriałów.

Ważnym osiągnięciem Doktorantki jest wykazanie, że metoda SonoNanoCoat jest uniwersalną metodą, która pozwala na osadzanie jednorodnych powłok hydroksyapatytowych na powierzchniach wykonanych z różnych materiałów: od stopów tytanu, polimerów termostabilnych, takich jak PEEK, polimerów termoplastycznych, takich jak UHMWPE, polimerów biodegradowalnych, takich jak PCL czy w końcu kompozytów PCL/HAP/TCP. Opracowana metoda pozwala na osadzanie nanopowłok na trudno dostępnych powierzchniach, takich jak wewnętrzne struktury druków przestrzennych wykonanych z polimerów biodegradowalnych lub ażurowych implantów

kręgosłupa. Należy podkreślić, że wytworzone nanopowłoki indukowały tworzenie się biomimetycznego hydroksyapatytu z roztworu SBF, a odpowiedź komórkowa wskazywała na adhezję i wzrost ludzkich osteoblastów. Doktorantka wykazała również wysoką żywotność i zasiedlanie polimerowych i kompozytowych rusztowań kostnych modyfikowanych nano-powłoką hydroksyapatytową przez komórki macierzyste.

Uwagi dyskusyjne

Praca doktorska została przygotowana w formie monografii napisanej w układzie klasycznym, w której dwie trzecie zawartości poświęcone jest przedstawieniu uzyskanych wyników i ich dyskusji. Wnioski są sformułowane w sposób poprawny i dobrze odzwierciedlający nowatorski charakter zrealizowanych badań.

Doktorantka nie ustrzegła się jednak drobnych błędów redakcyjnych, jak np. :

Doktorantka używa w pracy sformułowania „koncentracja cząstek” zamiast „stężenie cząstek”;

Str. 38 – „w racy” zamiast „w pracy”; str. 99 „randomowa” zamiast „przypadkowa”;

Str. 52 – Doktorantka opisuje metodę przygotowania pastylek PCL poprzez podgrzewanie próbki „do momentu zeszklenia”. O jakim zeszkleniu mowa, gdyż zeszklenie jest to określona przemiana fazowa. Proszę o wyjaśnienie tej kwestii. Czy Doktorantka kontrolowała grubość próbek i czy ma to związek (a jeśli tak, to jaki?) z jakością uzyskanych próbek?

Str. 56 – nazwę rozdziału „Metody charakteryzacji” można byłoby nazwać „Metody badawcze”

Str. 67 – określanie dyfraktogramów jako „widma” jest niewłaściwe;

Wymienione uwagi nie umniejszają rangi osiągnięć dokonanych przez mgr inż. Szałaj i mają charakter tylko porządkowy i dyskusyjny.

Wnioski końcowe

Doktorantka zrealizowała ciekawe badania z obszaru inżynierii nanomateriałów i inżynierii powierzchni, wnosząc nową wiedzę w obszarze wytwarzania nanocząstek hydroksyapatytu i osadzania warstw hydroksyapatytowych na podłożach różnych materiałów stosowanych do wytwarzania wyrobów medycznych i konkretnych implantów stosowanych w ortopedii. Doktorantka opracowała autorską metodę SonoNanoCoating do osadzania powłok hydroksyapatytowych z wykorzystaniem ultradźwięków. Opracowana metoda pozwoliła na osadzanie nanopowłok na różnych materiałach i trudno dostępnych powierzchniach, takich jak wewnętrzne struktury druków przestrzennych wykonanych z polimerów biodegradowalnych/kompozytowych lub ażurowych implantów kręgosłupa. Należy podkreślić, że wytworzone nanopowłoki indukowały tworzenie się biomimetycznego hydroksyapatytu z roztworu SBF, a odpowiedź komórkowa wskazywała na adhezję i wzrost ludzkich osteoblastów.

Doktorantka bez wątpienia zrealizowała nowatorskie prace badawcze, wykazała umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych poprzez dobór

odpowiednich metod badawczych i technik eksperymentalnych oraz pokazała umiejętność oryginalnego rozwiązania problemu naukowego.

Biorąc pod uwagę osiągnięte wyniki, stwierdzam iż przedłożona do recenzji praca doktorska mgr inż. Urszuli Szałaj spełnia warunki przewidziane ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789, z późn. zm.), a także wymaganiami określonymi w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1668, z późn. zm.).

Dlatego wnoszę o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Urszuli Szałaj do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz publicznej obrony.

Szczecin, 9.02.2024

