



Politechnika Łódzka

Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska

Łódź, 31.08.2023

Dr hab. inż. Katarzyna Nawrotek
Katedra Inżynierii Środowiska
Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska
Politechnika Łódzka
Ul. Wólczańska 213
93-005 Łódź

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Piotra Kowalczyka

pt. „Proces otrzymywania polimerowo-ceramicznych granulatów
porowatych do odbudowy tkanki kostnej”

Dane kandydata

Pan mgr inż. Piotr Kowalczyk uzyskał tytuł magistra dnia 22 czerwca 2016 roku na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej w dyscyplinie biotechnologia.

Kandydat nie ubiegał się uprzednio o nadanie stopnia doktora.

Od października 2016 roku Pan mgr inż. Piotr Kowalczyk jest uczestnikiem studiów doktoranckich na Wydziale Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej. Od października 2017 roku do lipca 2019 roku był pracownikiem badawczym w Green Foods Sp. z o.o. Od października 2019 roku do czerwca 2023 roku pracował na stanowisku specjalisty w Centrum Zaawansowanych Materiałów i Technologii CEZAMAT Politechniki Warszawskiej.

Informacje o ocenianej rozprawie doktorskiej

Podstawą wykonania recenzji pracy doktorskiej Pana mgr inż. Piotra Kowalczyka było pismo Pana dr hab. inż. Andrzeja Krasieńskiego, Prof. PW z dnia 7 lipca 2023 roku informujące, że Rada Naukowa Dyscypliny „Inżynieria Chemiczna” w Politechnice Warszawskiej na posiedzeniu w dniu 4 lipca 2023 roku powołała mnie na Członka Komisji Doktorskiej w przewodzie Pana mgr. inż. Piotra

Kowalczyka, temat pracy: „Proces otrzymywania polimerowo-ceramicznych granulatów porowatych do odbudowy tkanki kostnej”.

Przedstawiona do oceny praca doktorska pt. „Proces otrzymywania polimerowo-ceramicznych granulatów porowatych do odbudowy tkanki kostnej” należy do dziedziny nauk inżyniero-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna wg. Rozporządzenia Ministra Edukacji i Nauki z dnia 11 października 2022 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych (Dz. U. poz. 2202). Pracę doktorską wykonano pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Tomasza Ciacha oraz dr inż. Michała Wojasińskiego z Zakładu Biotechnologii i Inżynierii Bioprocessowej Wydziału Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej.

Celowość podjęcia tematu

Zapotrzebowanie na biomateriały, które wspomagają naprawę, wymianę lub odbudowę twardych i miękkich tkanek, stale rośnie wraz ze starzeniem się populacji. Przeszczepy kości są dość częstą interwencją chirurgiczną, jako że wykonuje się ją w Europie u ponad miliona osób rocznie. W większości przypadków pożądane są autologiczne przeszczepy kości, lecz wiążą się one z powikłaniami i są ograniczone niewielką dostępnością materiału. Inżynieria tkanki kostnej jest obiecującą alternatywą dla autologicznych lub allogenicznych przeszczepów kości. Obecne technologie inżynierskie pozwalają na konstruowanie syntetycznych, złożonych biomateriałów o właściwościach niemal tak dobrych jak naturalna kość, przy dobrej biokompatybilności. Pomimo rosnącego podobieństwa wytwarzanych materiałów do tkanki kostnej, nadal istnieje potrzeba opracowania złożonych substytutów kości, które zapewnią warunki biochemiczne i fizyczne wymagane do odtworzenia naturalnego wzrostu, różnicowania i dojrzewania komórek kostnych.

Rozprawa doktorska Pana mgr inż. Piotra Kowalczyka miała na celu opracowanie procesu otrzymywania syntetycznych biomateriałów w formie porowatego granulatu i wytworzenia z nich rusztowań, które mogą znaleźć zastosowanie jako podłoże do wzrostu komórek i odbudowy usuniętej z organizmu tkanki kostnej. Szczególny nacisk został położony na przedstawienie wpływu parametrów procesowych na wybrane właściwości fizyczne otrzymanych materiałów oraz na badania *in vitro* mające na celu ocenę właściwości bioaktywnych.

Celem pierwszej części pracy było opracowanie procesu produkcji granulatów porowatych z typowych polimerów stosowanych w inżynierii tkankowej: poli(kwasu mlekowego), kopolimeru kwasu mlekowego i glikolowego, polikaprolaktonu i chitozanu. Do polimerów dodano β -trifosforan wapnia, nieorganiczny związek ceramiczny, który odegrał znaczącą rolę w rozwoju inżynierii tkanki kostnej. Do otrzymania granulatu zaadaptowano znany z literatury proces emulsyfikacji z rozdzieleniem faz wywołanym rozpuszczalnikiem (ang. *solvent induced phase separation technology*).

W drugiej części pracy został zaproponowany proces termicznego łączenia granulatów w celu otrzymania trójwymiarowego rusztowania do hodowli komórek ludzkich i zwierzęcych. Ponadto, zbadano techniki zwiększania adhezji komórek na rusztowaniach za pomocą zwiększenia

hydrofilowości materiałów plazmą atmosferyczną oraz pokryciami z polikatecholamin (polidopaminy i polinorepinefryny).

Ostatnia część pracy miała na celu ocenę bioaktywności otrzymanych rusztowań w kontakcie z linią komórkową komórek osteoblastycznych ludzkiego raka kości MG-63 (ang. *fibroblast-like human osteosarcoma cells*) oraz ludzkimi mezenchymalnymi komórkami macierzystymi hMSC (ang. *human mesenchymal stem cells*).

Badania i wyniki zaprezentowane w rozprawie doktorskiej mgr. inż. Piotra Kowalczyka pozwoliły na wyselekcjonowanie materiału w formie granulatu mającego potencjalne zastosowanie w regeneracji tkanki kostnej. Rusztowania wykonane z kompozytu Resomer[®] LR 706 S i β -trifosforanu wapnia o powierzchni modyfikowanej polidopaminą lub polinorepinefryną zostały wybrane ze względu na wysoką wytrzymałość na ściskanie, możliwość tworzenia trójwymiarowych struktur i bioaktywność.

W związku z powyższym bardzo wysoko oceniam trafność kierunku badań, ich realizację oraz uzyskane wyniki zaprezentowane w ocenianej rozprawie doktorskiej. Tematyka badań jest oryginalna i interdyscyplinarna. Przyjęty zakres badań jest szeroki, a zgromadzony materiał wynikowy ma dużą wartość naukową i aplikacyjną.

Ogólna charakterystyka pracy

Rozprawa doktorska została złożona w formie jednotematycznego cyklu publikacji pod wspólnym tytułem „Proces otrzymywania polimerowo-ceramicznych granulatów porowatych do odbudowy tkanki kostnej” opublikowanych w latach 2020-2023:

P1. Major, R., Kowalczyk, P., Surmiak, M., Łojszczyk, I., Podgórski, R., Trzaskowska, P., Ciach, T., Russmueller, G., Kasperkiewicz, K., Major, Ł., Jabłoński, R., Kropiwnicki, J., & Lackner, J. M. (2020). Patient specific implants for jawbone reconstruction after tumor resection. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 193, 111056. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111056>

P2. Kowalczyk, P., Podgórski, R., Wojasiński, M., Gut, G., Bojar, W., & Ciach, T. (2021). Chitosan-human bone composite granulates for guided bone regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms22052324>

P3. Kowalczyk, P., Wojasiński, M., Jaroszewicz, J., Kopeć, K., & Ciach, T. (2023). Controlled formation of highly porous polylactic acid-calcium phosphate granules with defined structure. *Biomaterials Advances*, 144, 213195. <https://doi.org/10.1016/J.BIOADV.2022.213195>

P4. Kowalczyk, P., Wojasiński, M., Kopeć, K., Jaroszewicz, J. & Ciach, T. (2023). Composite microgranular scaffolds with surface modifications for improved initial osteoblastic cell proliferation. *Biomaterials Advances*, 151, 213489. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213489>

Recenzowana rozprawa to przewodnik po cyklu publikacji, na który składają się cztery spójnie tematycznie prace o charakterze eksperymentalnym. Wszystkie opublikowano w recenzowanych

czasopismach naukowych z listy JCR o współczynniku wpływu IF w zakresie od 5,268 do 8,457 (w odniesieniu do roku publikacji). Są to prace wydane w Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (P1), International Journal of Molecular Sciences (P2) i Biomaterials Advances (P3 i P4). W trzech pracach stanowiących monotematyczny cykl Doktorant jest pierwszym autorem i autorem korespondującym. Oświadczenia Pana mgr inż. Piotra Kowalczyka potwierdzają wiodącą rolę w tworzeniu publikacji jak i wykonaniu prac eksperymentalnych. Przedstawione do recenzji 159 stronicowe opracowanie podzielone zostało na następujące części: Streszczenie rozprawy doktorskiej, Abstract of the dissertation, Wykaz artykułów naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, Pozostały dorobek naukowy, Część I – wprowadzenie do tematyki badawczej, Część II – proces otrzymywania granulatów, Część III – budowa rusztowania i badania biologiczne, Wykaz skrótów, Spis rysunków, Spis tabel, Pełne teksty publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej i Bibliografia. Cytowana literatura jest bogata (170 pozycji), co dowodzi dogłębnej analizy badanego tematu przez doktoranta.

Ocena pracy pod względem metodycznym

Zastosowane w pracy metody badawcze oparte są na nowoczesnych metodach analizy właściwości chemicznych, fizycznych, mechanicznych i biologicznych materiałów przeznaczonych do zastąpienia lub wspomaganie regeneracji tkanek. Ponadto przeprowadzono modelowanie statystyczne za pomocą programu Statistica (wersja 12, StatSoft, Dell Inc., USA). Dobór metod jest uzasadniony i właściwy, a ich użycie pozwala na osiągnięcie założonego celu przeprowadzonych badań. W pracy zaadaptowano znany z literatury proces emulsyfikacji z rozdzieleniem faz wywołanym rozpuszczalnikiem w celu otrzymania granulatu. Morfologia granulatów została oceniona na podstawie zdjęć otrzymanych przy użyciu skaningowej mikroskopii elektronowej. Cytotoksyczność otrzymanych materiałów została zbadana za pomocą testu do analizy aktywności metabolicznej komórki (test MTT). Ocena właściwości mechanicznych rusztowań została dokonana za pomocą maszyny wytrzymałościowej Instron 3345 (Norwood, Massachusetts, USA). Analizowanymi parametrami był moduł sprężystości i wytrzymałość na ściskanie. Ocena właściwości biologicznych została przeprowadzona na podstawie obserwacji z wykorzystaniem skaningowej laserowej mikroskopii konfokalnej. Szeroki zakres metod oraz liczba próbek, które były poddane analizie świadczy o dużym zaangażowaniu Doktoranta oraz o jego znaczącym wkładzie w powstanie pracy. Materiał wynikowy jest obszerny, a badania wykonane są na współczesnym poziomie, który odpowiada nowoczesnym osiągnięciom w tej dziedzinie nauki światowej.

Ocena pracy pod względem merytorycznym

Celem rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Piotra Kowalczyka było opracowanie procesu otrzymywania syntetycznych biomateriałów w formie porowatego granulatu i wytworzenia z nich rusztowań, które mogą znaleźć zastosowanie jako podłoże do wzrostu komórek i odbudowy usuniętej z organizmu tkanki kostnej.

W rozdziale „Część I – wprowadzenie do tematyki badawczej” Doktorant scharakteryzował budowę tkanki kostnej oraz nakreślił problematykę inżynierii tkanki kostnej. W tej części wskazał cele stosowania syntetycznego rusztowania do regeneracji tkanki kostnej i scharakteryzował właściwości, które powinno ono posiadać. Następnie omówił metody oraz materiały do przygotowania rusztowań. Część przeglądową zamyka rozdział poświęcony problematyce procesu emulsyfikacji z rozdzieleniem faz wywołanym rozpuszczalnikiem. Doktorant zakończył rozdział omówieniem celu badań i przedstawieniem tez badawczych.

Rozdział „Część II – proces otrzymywania granulatów” opisuje materiały i metody do produkcji granulatów zastosowane w pracy doktorskiej. Rozdział został poświęcony scharakteryzowaniu modelowania otrzymania granulatu za pomocą programu Statistica (wersja 12, StatSoft, Dell Inc., USA) i badań cytotoksyczności. Rozdział zamyka zwięzłe streszczenie uzyskanych wyników.

W rozdziale „Część III – budowa rusztowania i badania biologiczne” Doktorant scharakteryzował zastosowane materiały i metody do tworzenia rusztowań z opracowanych granulatów. Omówił także stosowane materiały i metody do modyfikacji powierzchni rusztowań. Rozdział został poświęcony ocenie bioaktywności otrzymanych rusztowań w kontakcie z linią komórkową komórek osteoblastycznych ludzkiego raka kości MG-63 oraz ludzkimi mezenchymalnymi komórkami macierzystymi hMSC. Rozdział zamyka podsumowanie wyników uzyskanych w części II i III pracy oraz dyskusja.

W rozdziale „Pełne teksty publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej” doktorant omówił swój wkład w powstanie publikacji tworzących jednotematyczny cykl.

Uwagi i pytania do części I-III pracy

1. Brak omówienia właściwości mechanicznych rusztowań w rozdziale „Część III – budowa rusztowania i badania biologiczne”.

Doktorant nie omówił uzyskanych wyników dla właściwości mechanicznych rusztowań. Znalazłam odesłanie do Artykułów P3 i P4 na str. 55.

2. Brak ujednoczenia nazewnictwa zastosowanych polimerów

Odbiór pracy jest utrudniony przez brak konsekwencji w nazewnictwie zastosowanych polimerów. Na przykład dla zastosowanego poli(kwasu mlekowego) znalazłam przynajmniej 5 różnych nazw: poli(kwas mlekowy) Resomer LR 706S (str. 4), PLA Evonik Industries Resomer LR 706 S (str. 41), Resomer LR 706 S (str. 47), Resomer LR706 S (str. 49), PLA Resomer LR706 (str. 76).

3. Co może być przyczyną uzyskanych dużych odchyłeń standardowych dla danych przedstawionych na rysunku 23 (str. 67)?

4. Czy Doktorant zastanawiał się nad możliwością komercjalizacji uzyskanych wyników pracy?

Uwagi i pytania do cyklu publikacji

Publikacja P1

1. Co jest kontrolą na rysunku 9 (str. 91)? Na jakiej podstawie określono ilość użytych mikrosfer z PLA i granulek z PLA/ β -TCP i ilość użytego roztworu ALP. Czy Doktorant zastanawiał się nad modelem matematycznym znanym z literatury, którym można byłoby opisać przedstawione na rysunku 9 (str. 91) kinetyki uwalniania ALP?

Publikacja P2

1. Co może być przyczyną uzyskanych dużych odchyłeń standardowych dla danych przedstawionych na rysunku 3B (str. 98)?

Publikacja P3

1. Jakimi kryteriami kierował się Doktorant przy wyborze próbek do analizy właściwości fizykomechanicznych i biologicznych otrzymanych granulek i rusztowań? W pracy znalazłam zapis „Each variant of produced granules was examined with SEM to observe the particles' surface and cross-section, however four most representative variants of granulate, Resomer and Biomer with and without calcium phosphate, have been chosen for further tests and to be presented in Fig. 4.” (str. 118).

Publikacja P4

1. Dopamina i norepinefryna są organicznymi związkami chemicznymi, który pełną funkcję neuroprzekaźników. Czy Doktorant zastanawiał się nad tym, czy jest możliwość uwalniania polidopaminy z rusztowań i jak to wpłynie na komórki inne niż komórki budujące tkankę kostną?

Wniosek końcowy

Rozprawę przygotowano zgodnie z wymogami określonymi w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. poz. 1668). Rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie podjętego problemu naukowego. Treść rozprawy potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w dyscyplinie inżynieria chemiczna, a sprecyzowane tezy, cele i zakres badań, ich zaplanowanie i opis oraz interpretacja wyników świadczą o dojrzałości naukowej i potwierdzają umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Przedstawione i dyskutowane w pracy wyniki uznają za wartościowe oraz inspirujące do prowadzenia dalszych badań.

Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny „Inżynieria Chemiczna” w Politechnice Warszawskiej o dopuszczenie Pana mgr inż. Piotra Kowalczyka do dalszego postępowania kwalifikacyjnego przewidzianego w procedurze do uzyskania stopnia doktora nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna.

Mając na uwadze zakres zrealizowanych badań, jakość wyników, które Doktorant uzyskał i opublikował w czasopismach naukowych znajdujących się na liście JCR, a także odnosząc się do mojej oceny materiałów uzupełniających samą pracę doktorską, wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny „Inżynieria Chemiczna” w Politechnice Warszawskiej o wyróżnienie Pana mgr inż. Piotra Kowalczyka.

Katarzyna Nawrotek

Dr hab. inż. Katarzyna Nawrotek

