

Recenzja
pracy doktorskiej Pani mgr Anny Mazur-Nowackiej
pt.
Powłoki ceramiczne z dodatkiem tlenków pierwiastków reaktywnych na
podłożach metalicznych do zastosowań biomedycznych

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Anny Mazur-Nowackiej pt. „*Powłoki ceramiczne z dodatkiem tlenków pierwiastków reaktywnych na podłożach metalicznych do zastosowań biomedycznych*” została wykonana na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod kierownictwem prof. dra hab. Bogdana Szczygła. Rolę promotora pomocniczego pełnił Pan dr inż. Jacek Chęcmanowski.

Jest to bardzo obszerna praca eksperymentalna, w której Doktorantka skupiła się na opracowaniu warunków wytwarzania powłok ceramicznych opartych o SiO_2 , ZrO_2 , Y_2O_3 na stali medycznej 316L pod kątem zastosowań biomedycznych. Rozprawę można zakwalifikować jako interdyscyplinarną, gdyż łączy w sobie kilka dziedzin, tj. inżynierię materiałową, inżynierię chemiczną, korozję i biologię. Jest to raczej opracowanie leżące w obszarze badań podstawowych, lecz z propozycją wykorzystania uzyskanych wyników w praktyce.

Przedmiotem badań Doktorantki jest wytworzenie powłok ceramicznych na stali 316L, dzięki czemu stal ta powinna uzyskać właściwości bioaktywne (w sensie umożliwienia osteointegracji implantów z tkanką kostną), a także powinna zostać zwiększona jej odporność na korozję w środowisku tkankowym. W mojej ocenie realizowane badania leżą w nurcie nowoczesnej inżynierii biomedycznej. Obecny trend w nauce prowadzi do wytwarzania materiałów funkcjonalnych o właściwościach pozwalających na szersze spektrum ich zastosowania. W przypadku implantów metalowych powłoki funkcjonalne mogą nadawać im zupełnie nowe właściwości, np. wspomagać procesy zrostu z tkanką kostną, lub też powodować, iż będą one antybakteryjne. Zastosowana przez Doktorantkę metoda zol-żel w stosunkowo prosty sposób może przyczynić się do nadania stali 316L odpowiednich cech funkcjonalnych. Pomimo tego, że sama metoda jest, jak wspomniałem, w miarę prosta to o sukcesie decydują opracowane parametry technologiczne nakładania powłok. Z kolei prawidłowy dobór składu chemicznego powłoki ceramicznej, np. poprzez dodatek pierwiastków reaktywnych, może prowadzić do uzyskania materiału i optymalnych właściwościach biologicznych i korozyjnych.

Układ ocenianej rozprawy doktorskiej jest typowy. Doktorantka wprowadza czytelnika w pracę wstępem i dokonuje przeglądu literaturowego, następnie formułuje tezę i cel pracy. W kolejnym kroku szczegółowo opisuje stosowane metody badawcze, a później wyniki badań i ich dyskusję. Rozprawę kończy podsumowaniem i wnioskami.

Jako cel pracy Doktorantka postawiła sobie wytworzenie ceramicznych powłok tlenkowych na stali 316L, które będą stanowiły barierę ochronną przed działaniem środowiska korozyjnego i zarazem zwiększały biogodność implantów stalowych. Ideą było wytworzenie jednoskładnikowych powłok SiO_2 , ZrO_2 , Y_2O_3 lub też powłok wielowarstwowych z układu SiO_2 - Y_2O_3 . Doktorantka postawiła sobie za zadanie określenie wpływu parametrów technologicznych nakładania powłok na efekt końcowy, przy czym jako wskaźniki weryfikacyjne przyjęła topografię, odporność na korozję oraz możliwość samorzutnego tworzenia hydroksyapatytu.

W literaturowej części pracy Doktorantka skupia się na wprowadzeniu czytelnika w tematykę biomateriałów i modyfikacji ich powierzchni. Rozpoczyna od ogólnego opisu biomateriałów, posiłkując się przy tym obecnie obowiązującymi normami. Następnie opisuje materiały, które leżą w obszarze jej zainteresowań – metale (stal), a także ceramikę. W kolejnym kroku przybliży technologię wytwarzania warstw ceramicznych metodą zol-żel, a także sam mechanizm formowania warstw. Dokonuje także przeglądu literaturowego koncentrując się na powłokach SiO_2 , ZrO_2 , Y_2O_3 . Ważnym elementem części literaturowej jest także opis problemów związanych z korozją implantów metalowych na skutek działania środowiska tkankowego. W mojej ocenie część literaturowa została napisana przejrzysto i zawiera najważniejsze informacje dotyczące tematyki rozprawy doktorskiej.

Cześć doświadczalna jest opisana klasycznie. Doktorantka szczegółowo opisuje każdy z etapów pracy i jasno nakreśla plan badań. Część ta podzielona jest na dwa zasadnicze podrozdziały – materiały i metody badań. Scharakteryzowane zostały procedury otrzymywania powłok zol-żelowych, a także metody badań otrzymanych materiałów. Zastosowano takie metody badawcze jak skaningowa mikroskopia elektronowa, mikroanaliza rentgenowska, spektroskopia Ramana, spektroskopia XPS. Ponadto do określenia właściwości korozyjnych zastosowano elektrochemiczne techniki stałoprądowe, a także długoterminową ekspozycję w roztworze sztucznego osocza. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż w celu określenia biogodności wytworzonych powłok zastosowano biologiczne badania *in vitro*.

Wyniki badań i ich dyskusja stanowią kolejny etap pracy. Doktorantka bardzo sensownie podzieliła swoje wyniki w zależności od rodzaju powłok. W każdym podrozdziale znajduje się podobny zestaw wyników usystematyzowany ze względu na rodzaj wykonywanych badań, co ułatwia ich analizę. Ogólnie rzecz ujmując w przypadku powłok jednoskładnikowych znajdziemy badania wpływu warunków ich wytwarzania na morfologię powierzchni próbek, skład chemiczny powłok, zachowanie w roztworze SBF (zarówno pod kątem osadzania hydroksyapatytu jak i degradacji próbek), odporność korozyjną. Z kolei w przypadku powłok wielowarstwowych z układu SiO_2 - Y_2O_3 standardowy zestaw badań został rozszerzony o analizę składu chemicznego metodami spektroskopii Ramana (także obecną w przypadku powłok ZrO_2) i XPS, pomiaru grubości warstw, a także ich przyczepności do podłoża metalowego. Badania te zostały

uzupełnione o charakterystykę biologiczną *in vitro* z wykorzystaniem komórek osteoblastopodobnych linii MG-63. Warty odnotowania jest fakt, iż w każdym z podrozdziałów Doktorantka skrótowo przedstawia metodykę badawczą i parametry zmienne procesu wytwarzania każdego typu powłok. Takie podejście zdecydowanie ułatwia czytelnikowi śledzenie pracy. Każdy z rozdziałów kończy się dyskusją wyników i wyciągnięciem stosownych wniosków dotyczących optymalnych warunków wytwarzania powłok ceramicznych danego typu.

Na końcu rozprawy Doktorantka podsumowuje całą pracę i wskazuje na możliwość komercyjnego zastosowania powłok $\text{SiO}_2\text{-Y}_2\text{O}_3$ jako pokryć narzędzi chirurgicznych bądź implantów metalowych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest ciekawym opracowaniem naukowym. Jest ona bardzo logicznie zaplanowana i zrealizowana. Doktorantka opanowała szereg technik badawczych i analitycznych, począwszy od wytwarzania ceramicznych powłok tlenkowych metodą zol-żel i ich charakterystyki, aż po testy biologiczne, nieodzowne w badaniu biomateriałów. Realizacja założonego i do tego bardzo obszernego programu badań z pewnością wymagała dużego zaangażowania i wkładu pracy Doktorantki. Rozprawa została napisana w przystępny sposób, a jej szata edytorska jest przejrzysta.

Jak w każdej rozprawie doktorskiej, i w tej znalazły się pewne niejasności i niedomówienia, które Doktorantka powinna wyjaśnić.

Uwagi ogólne:

1. W pracy brakuje jasnego wskazania jakiemu typowi implantów dedykowane będą powłoki ceramiczne wytwarzane przez doktorantkę. We wstępie zaprezentowany jest podział implantów ze względu na czas ich stosowania, gdzie wspomniana jest stal 316L jako standard w osteosyntezie. Moim zdaniem znalazły się tutaj uogólnienia, które mogą wprowadzać w błąd, a mianowicie nie wszystkie implanty powinny zrastać się z kością (str. 9). Z kością powinny zrastać się implanty, które stosujemy długoterminowo, a więc np. endoprotezy, implanty dentystyczne, itp. W przypadku implantów krótkoterminowych, tych, które po spełnieniu swojej funkcji będą usuwane z organizmu, skłonności do zrastania się z kością są wręcz niewskazane.
2. Doktorantka opisuje badania procesów korozyjnych, lecz głównie skupia się na metodach stałoprądowych, które zresztą później w pracy stosuje. Wybór tych metod powinien być dobrze uzasadniony, gdyż metody stałoprądowe nie są najlepszymi do badania procesów korozyjnych metali samopasywujących się, a także pokrytych warstwami nieprzewodzącymi (ceramicznymi). W takim przypadku korzystniejsze jest zastosowanie technik zmiennoprądowych (elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna). Brakuje też odniesienia do wspomnianej normy PN-EN ISO 10993, która w części 15 podaje jaki jest

zakres badań degradacji implantów metalowych (badania stałoprądowe, obserwacja mikroskopowa, badania degradacji w sztucznym płynie ustrojowym).

3. W rozprawie Doktorantka podjęła próbę oszacowania wpływu czasu ekspozycji na degradację wytwarzanych materiałów w roztworze SBF, przy jednoczesnej obserwacji tworzących się na nich osadów apatytowych. Założenie to jest słuszne, lecz wyjaśnienia wymaga dobór czasu trwania eksperymentu. Zmierzam do tego, że badania w roztworze SBF są podstawowymi, które mogą coś powiedzieć o bioaktywności powierzchni implantów. Jednakże prowadzi się je w krótszych odstępach czasu niż zaproponowane w pracy. Ponadto roztwór SBF wymienia się co kilka dni (z reguły 2-3) celem dostarczenia odpowiedniej ilości Ca i P.

Uwagi szczegółowe:

4. str. 8 – co oznacza stwierdzenie reakcja lecznicza?
5. str. 8 – kość także jest tkanką żywą,
6. str. 9 – biodegradacji ulegają też implanty metalowe, np. wykonywane z Mg,
7. str. 10 – od implantów długotrwałych często wymaga się aby nie były bioinertne, lecz bioaktywne, a w szczególności dotyczy to tych, które mają zrosnąć się z kością,
8. str. 10 – co należy rozumieć pod pojęciem duża chropowatość powierzchni?
9. str. 12 – norma PN-EN ISO 10993 oprócz wskazanych wyróżnia badania degradacji implantów, co jest kluczowe dla niniejszej rozprawy,
10. str. 12 – implanty z tantalu i niobu wykonywane są raczej w ograniczonym zakresie. Z jakich stopów niklu wykonuje się implanty?
11. str. 12 – oprócz czynników natury chemicznej nie należy zapominać o wpływie bakterii na przebieg procesów korozyjnych implantów metalowych,
12. str. 12 – uznanie żelaza za pierwiastek szkodliwy, analizując obecne trendy w poszukiwaniu nowych materiałów biodegradowalnych, zdaje się być niewłaściwym,
13. str. 13 – pomimo bardzo dobrej odporności korozyjnej tytanu właśnie środowisko jamy ustnej bardzo często przyczynia się do niszczenia np. implantów dentystycznych. Wiąże się to z obecnością jonów fluorkowych zawartych w pastach do mycia zębów, a także z obecnością bakterii,
14. str. 15 – stosowanie stali w medycynie wcale nie jest ograniczone, w szczególności w osteosyntezie,
15. str. 16 – czy chodzi o materiały cyrkonowe (metalowe), czy też cyrkonowe (od cyrkonii – ZrO_2),
16. str. 18 – mechanizm tworzenia HA na implantach powinien zostać zweryfikowany i dostosowany do środowiska tkankowego, a nie tylko SBFu. W pierwszym etapie implant

- ma kontakt z wodą, następnie adsorpcją cząstek (białka, część nieorganiczna) i potem komórek,
17. str. 19 – na rysunku brakuje etapu nanoszenia powłoki przed wypalaniem,
 18. str. 20 – czym się różni grupa -OH od grupy -OH?
 19. str. 24 – SiO₂ raczenie nie zawiera grup hydroksylowych i silanowych,
 20. str. 24 i 25 – nazewnictwo powinno być ujednorodnione – di- lub dwu- (zgodnie z nowym nazewnictwem powinno stosować się przedrostek di-),
 21. str. 29 – bez wykonania badań na zwierzętach nie da się określić formowania ceramiki apatytowej między powierzchnią wszczepu, a kością. Owszem można wykonać wstępne badania, które mogą potwierdzić możliwość indukowania krystalizacji apatytów przez dany materiał, lecz nie są to badania wystarczające,
 22. str. 29 – dlaczego podczas przygotowywania płynu fizjologicznego ważna jest kolejność dodawania odczynników?
 23. str. 30 – tytuł podrozdziału jest nieprecyzyjny, raczej chodziło o środowisko tkankowe, a nie implantów metalicznych. Swoją drogą, czy poprawnym nie byłoby stosowanie słowa metalowych?
 24. str. 30 – czy faktycznie siłą napędową procesów korozji są ogniwa korozyjne?
 25. str. 40 – próbki stali szlifowano papierem o gradacji aż do 2000, co oznacza, że były praktycznie wybliszczzone. Czy były prowadzone testy na próbkach np. piaskowanych?
 26. str. 40 – roztwory powłokowe, czy raczej powłokotwórcze?
 27. str. 42 – w tym przypadku powinno się raczej stosować słowo liczba, a nie ilość,
 28. str. 46 – podczas badania składu chemicznego metodą EDX charakterystyczne promieniowanie jest generowane na skutek bombardowania wiązką elektronów (co się z tym wiąże wybijania elektronów w atomach materiału badanego na wyższe poziomy energetyczne, następnie następuje powrót elektronów na niższe orbitale i emisja promieniowania), a nie odbijane,
 29. str. 49 – komórki martwe nie proliferują,
 30. str. 52 – czy komórki przed obserwacją w mikroskopie elektronowym odwadniano i fiksowano?
 31. str. 56 – co oznacza liczba wydzielonych osadów?
 32. str. 61 – badania w roztworze SBF były prowadzone przez 140 dni, jak zapobiegano parowaniu wody?
 33. str. 63 – na rysunku nr 14 wyraźnie widać, iż doszło do przebicia przy ok 0,3 V. W innych przypadkach także można obserwować przebicie, lecz nie zostało to skomentowane w tekście. Swoją drogą w metodyce jest napisane, że próbki polaryzowano do 1,5 V, natomiast na rysunkach zakres potencjału kończy się poniżej 1 V. Co było przyczyną?

34. str. 78 – skąd obecność SiC?
35. str. 111 – czy kuleczki tworzą ciągłe warstwy?
36. str. 112 – czy próbowano się zastanowić nad mechanizmem otrzymywania powłok o kulistej morfologii? Może jest to wpływ fobowości stali względem prekursora powłoki?
37. str. 135 – co oznacza prawidłowa cytotoxyczność?
38. str. 136 – czy była prowadzona analiza statystyczna w badaniach biologicznych?

Drobnych błędów nie wykazuję, gdyż nie mają one najmniejszego wpływu na jakość pracy.

Wnioski końcowe

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska leży w obszarze badań podstawowych. Zawiera ona w swojej treści elementy nowości naukowej i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Doktorantka wykazała się znajomością licznych technik badawczych, a co najważniejsze umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Wyniki Jej pracy, a także te powstałe w wyniku współpracy z innymi naukowcami zostały opublikowane zarówno w krajowych jak i zagranicznych czasopismach (lista JCR).

Moja ocena pracy jest jednoznacznie pozytywna, a przedstawione uwagi są dyskusyjne. W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Anny Mazur-Nowackiej spełnia wymogi pracy doktorskiej, o których mowa w stosownej ustawie. Wnioskuje zatem do Rady dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Pani mgr Anny Mazur-Nowackiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wojciech Simka