

Prof. dr hab. inż. Jan R. Dąbrowski
Politechnika Białostocka, Wydział Mechaniczny
Katedra Inżynierii Materiałowej i Produkcji
ul. Wiejska 45 C, 15-351 Białystok
e-mail: j.dabrowski@pb.edu.pl

Białystok, 12.06.2017

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Adriana Chlandy

pt. „Charakterystyka wybranych właściwości powierzchni biodegradowalnych rusztowań nanowłóknistych na potrzeby inżynierii tkankowej”

1. Wprowadzenie

Postęp cywilizacyjny wpływa na wydłużenie i podwyższenie komfortu życia ludzi. W niewielkim jednak stopniu zmienia procesy starzenia tkanek i narządów. Jest to więc wyzwanie dla rzeszy naukowców i praktyków klinicznych, w kierunku opracowania procedur medycznych leczenia tego typu schorzeń. Stosowane obecnie techniki implantacji i transplantacji zastępowane są w coraz większej skali metodami inżynierii genetycznej i tkankowej.

Inżynieria tkankowa wywołuje najmniej kontrowersji etycznych i jest coraz bardziej skuteczną metodą zastępowania tkanek i narządów. Postępy w tym zakresie w dużym stopniu zależą od rozwoju biomateriałów na podłoża dla hodowli tkankowych (skafoldy). Tego typu biomateriały mają służyć za fundament umożliwiający adhezję i rozrost komórek, w kierunku tworzenie bardziej skomplikowanych struktur (tkanek i narządów). Istnieją niewystarczające doniesienia literaturowe dotyczące wpływu architektury (morfologia, struktura) oraz właściwości fizykochemicznych i mechanicznych podłoży na aktywność komórkową.

W tym kontekście tematyka rozprawy wpisuje się znakomicie w najnowsze tendencje rozwoju biomateriałów na podłoża dla hodowli komórkowych. Problemem naukowym podjętym w pracy była efektywna metoda ilościowego i jakościowego badania topografii i pomiaru właściwości mechanicznych włókien biodegradowalnych rusztowań nanowłóknistych z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych (AFM). Ważkim argumentem naukowym i utylitarnym, było przejście od badania pojedynczych włókien do ich splotu we włókninie – rusztowań (scaffolds) dla potrzeb hodowli tkankowych.

2. Ocena rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska zawiera 106 stron, włącznie z bibliografią - w tym 40 rysunków i 18 tabel. Na początku pracy zamieszczone zostały: źródła finansowania badań, podziękowania, streszczenie (w języku polskim i angielskim), wykaz skrótów i spis treści.

W końcu pracy zamieszczone zostały spisy rysunków i tabel oraz bibliografia, na którą składa się 191 pozycji literaturowych - w tym 2 z udziałem autora. Praca napisana jest w języku polskim. Została podzielona na następujące rozdziały:

- I. Wprowadzenie
- II. Cel i zakres pracy
- III. Materiały i metodyka badań
- IV. Wyniki i dyskusja
- V. Podsumowanie i wnioski
- VI. Dodatek

W rozdziale 1, autor wprowadza w tematykę rozprawy, wskazując na podstawowe cele pracy. W tej części rozprawy zawarty jest przegląd literatury fachowej, dotyczący celów i zadań inżynierii tkankowej oraz opis technik mikroskopii sond skanujących, zwłaszcza sił atomowych (AFM). Należy podkreślić syntetyczny, a jednocześnie jasny i zrozumiały charakter tych opisów. W przykładzie modyfikacji powierzchni polikaprolaktonu za pomocą wodorotlenku sodu wprowadza się grupy hydroksylowe, a nie jak podaje autor – karboksylowe (s.33). Niektóre z konstatacji należałoby poprzeć szerszą analizą danych literaturowych, np. (cytat, s. 47) "...tryb kontaktowy AFM nie jest odpowiedni w przypadku obrazowania struktur włóknistych". W podsumowaniu autor wskazuje na luki poznawcze odnośnie charakterystyk biomateriałów na potrzeby inżynierii tkankowej, zwłaszcza właściwości mechanicznych gotowych wyrobów (rusztowań). Jednocześnie podkreśla szerokie możliwości i słabe wykorzystanie technik sond skanujących w tego typu badaniach.

Zawarte w podsumowaniu wnioski stanowiły wykładnię dla sformułowania następujących celów naukowych pracy (rozdział II):

- opracowanie metody i przeprowadzenie wysoko rozdzielczej, nanometrycznej analizy topografii oraz właściwości mechanicznych włóknistych rusztowań,
- opracowanie zasad i techniki modyfikacji komercyjnych sond skanujących pod kątem wysokorozdzielczego obrazowania i pomiaru właściwości mechanicznych rusztowań o strukturze kontrolowanej w nanoskali,
- ilościowy opis i analiza wpływu degradacji hydrolitycznej i modyfikacji powierzchni na topografię i zmiany właściwości mechanicznych włókniny w nanoskali.

Zwraca uwagę logiczny i spójny algorytm badawczy pracy.

W następnym rozdziale (III. Materiały i metodyka badań) zawarta jest strategia badawcza, związana z doбором materiałów, hydrolityczną degradacją rusztowań, modyfikacją sond skanujących i optymalizacją parametrów obrazowania w AFM. Dla przygotowania nanowłóknistych rusztowań został wybrany znany, komercyjny polimer biodegradowalny – kaprolakton (PCL). Na jego bazie otrzymane zostały również materiały kompozytowe, z udziałem hydroksyapatytu. Rusztowania w postaci nanowłókniny otrzymywano metodą elektroprzędzenia. Arkusze włóknin poddane były modyfikacji powierzchniowej w procesie chemicznego osadzania (RF-CVD), w atmosferach wodoru oraz mieszaninie argonu i wodoru. Obrazowanie włóknin realizowano w trybie kontaktu przerywanego (TM AFM) za

pomocą szeregu komercyjnie dostępnych sond skanujących, o różnych stałych sprężystości i kształtach ostrza. Zastosowano również sondy ostrzone skupioną wiązką jonów (FIB), pozyskane od współpracowników z WIM PW.

Część badawczą (IV. Wyniki i dyskusja) rozpoczęto od optymalizacji parametrów obrazowania powierzchni otrzymanych rusztowań. Z uwagi na podstawowe cele pracy: wizualizację powierzchni i ocenę właściwości mechanicznych, zastosowano tryb TM AFM – nazwany w pracy „opukiwaniem” badanej powierzchni. Badania właściwości mechanicznych włókien poprzedzone zostały zabiegami kalibracji i optymalizacji parametrów akwizycji danych. Wyniki badań topografii powierzchni włókien wskazują na wzrost średnicy włókien kompozytowych w porównaniu do PCL. Zaobserwowano również aglomerację nanohydroksyapatytu. Autor nie wyjaśnia tego zjawiska, przytacza natomiast przeciwstawne hipotezy literaturowe (s.69). Dalej autor wskazuje na znaczące różnice średnic włókien PCL przygotowanych na szkiełku nakrywkowym i przeznaczonych do modyfikacji. Wyjaśnienie jest nazbyt lakoniczne: (cytat, s.69) „różnica ta spowodowana jest zmianą parametrów procesu wytwarzania próbki, której nadano większy gabaryt”.

W badaniach granulek PCL stwierdzono wpływ temperatury na zmiany właściwości sprężystych (moduł DMT). Cenne przy tym są rozważania autora dotyczące badań modułu DMT oraz sprężystości wyrażonej w postaci modułu Younga. Wydaje się jednak, że dla lepszej jakości merytorycznej tych rozważań, należałoby określić stany fizyczne badanego polimeru (np. kruchości, zeszklenia, mięknięcia). Autor słusznie zauważa, że (cytat, s. 73) „nawet niewielkie zanieczyszczenie powierzchni próbki może zmieniać reakcję materiału na działanie sondy”. Nasuwa się więc pytanie, czy wyjęcie próbki „tylko na czas badania” ze szczelnego pojemnika z folii aluminiowej, zapewni warunki czystości powierzchni?. Autor również rzetelnie wskazuje na wpływ czasu kondycjonowania polimerów na wartość modułu DMT. Stwierdza, że badania były realizowane przed upływem 30 dni od pozyskania próbki. Z uwagi jednak na możliwe zmiany strukturalne, szeroko opisane w literaturze (nie tylko sieciowanie – jak twierdzi autor), należałoby dokonać oceny warunków kondycjonowania próbek. Za oczywistą wydaje się konstatacja autora, że wraz ze wzrostem modułu DMT, deformacja maleje (s. 79).

Nasuują się też inne pytania ogólne:

- czy obszar skanowania $5 \times 5 \mu\text{m}$ jest wystarczający (reprezentatywny) dla opisu powierzchni włókniiny (s.72). Czy korzystniej byłoby zastosować tryb „force mapping”;
- jakie wartości sił stosowano podczas skanowania (set point);
- jak określano promień krzywizny ostrza;
- czy wystąpił problem zanieczyszczeń ostrza sondy.

Podstawowym celem modyfikacji RF CVD było kształtowanie właściwości hydrofobowych/hydrofilowych powierzchni badanych włókien. Największą hydrofilowość uzyskano po zabiegach w atmosferze argon-wodór. Zwiększa to zwilżalność takich materiałów, wpływając tym samym na procesy degradacji hydrolitycznej. Interesujące są wyniki badań wpływu modyfikacji CVD na właściwości mechaniczne badanych powierzchni.

Hipoteza, że w wyniku modyfikacji mogą powstawać polarne grupy karbonylowe (C=O), niepotwierdzona w badaniach FTIR (s.83), może budzić wątpliwości. Wyraźnie widoczne jest zmniejszenie modułu DMT w środowisku cieczy. Próby wyjaśnienia obserwowanych zjawisk są niewystarczające, aczkolwiek autor dostrzega „wagę problemu” i planuje dalsze badania z użyciem sond o innej charakterystyce. Można wyrazić nadzieję na kontynuację tych badań, również z powodów poznawczych.

3. Uwagi szczegółowe i krytyczne

Można mieć zastrzeżenia do prezentacji wyników badań, zwłaszcza do opisów rysunków i tabel. Brak jest jednolitości w tych opisach, m.in.: nieopisane osie (np. rys.7, s.26; rys. 35, s.78), nieczytelne opisy (np. rys.28, s.70). Brak danych parametrów obrazowania (tabela 5, s.46).

Autor w większości używa poprawnej terminologii naukowej i technicznej wraz z zasadą jednolitości terminologicznej. Można mieć jednak zastrzeżenia o charakterze dyskusyjnym odnośnie definiowanych pojęć, jak m.in.: biokompatybilność, biodegradacja, bioresorpcja, bioaktywność (s.21), technologiczność (s.22), biogodność (s.23).

Bibliografia w sposób wystarczający wspiera wybór celu badań i wnioski końcowe. Można mieć zastrzeżenia odnośnie braku jednolitych kryteriów w cytowaniach bibliograficznych (np. niepełne dane: poz.81, 157, 181).

Autor nie ustrzegł się nielicznych błędów językowych, głównie interpunkcyjnych.

Przedstawione w recenzji krytyczne uwagi i komentarze, w większości o charakterze dyskusyjnym i porządkowym, nie umniejszają mojej wysokiej oceny tej pracy. Mam nadzieję, że mogą one pomóc autorowi rozprawy w realizacji dalszych planów naukowych.

4. Podsumowanie i wniosek końcowy

Szeroki zakres oraz złożoność tematyki złożyły się na ambitny program badawczy recenzowanej pracy. Założone cele zostały w pełni osiągnięte. Autor wykazał się rozległą wiedzą i dobrym przygotowaniem merytorycznym oraz umiejętnościami do samodzielnego planowania i prowadzenia eksperymentów badawczych. Wskazane usterki i niedociągnięcia nie wpływają na poziom merytoryczny i mają pozytywną ocenę recenzowanej pracy.

Na podstawie przedstawionej powyżej recenzji stwierdzam, że rozprawa naukowa mgr inż. Adriana Chlandy pt. „Charakterystyka wybranych właściwości powierzchni biodegradowalnych rusztowań nanowłóknistych na potrzeby inżynierii tkankowej” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i może być dopuszczona do publicznej obrony.


(Prof. dr hab. inż. Jan R. Dąbrowski)