

Prof. dr hab. Alina Sionkowska
Katedra Chemii Biomateriałów i Kosmetyków
Wydział Chemii
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
alinas@umk.pl

Toruń, 5 maja 2020r.

Recenzja

pracy doktorskiej mgr inż. Alicji Kosik-Kozioł pt. „Three-dimensional Tissue Scaffolds Fabrication for Osteochondral Tissue Engineering”.

Przedstawiona do recenzji praca wykonana została na Wydziale Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej pod kierunkiem dr hab. inż. Wojciecha Świążkowskiego, prof. PW i dotyczy otrzymywania trójwymiarowych rusztowań dla inżynierii tkanki chrzęstno-kostnej.

Tytułem wstępu do recenzji należy nadmienić, że przemysł biomedyczny poszukuje nowych materiałów zarówno do zastosowań jako rusztowania w inżynierii tkankowej jak i do produkcji nowoczesnych opatrunków. Szczególnie poszukiwane są materiały naśladujące złożoną strukturę tkanki chrzęstno-kostnej o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu chorób zwyrodnieniowych stawów. Wymagania stawiane materiałom do zastosowań biomedycznych są bardzo wygórowane, głównie ze względu na to, że materiał przeznaczony jest do dłuższego lub krótszego kontaktu z żywym organizmem. Szczególnie dotyczy to rusztowań dla inżynierii tkanki kostnej i implantów kości, gdzie materiał musi być wysoce porowaty, biogodny i o odpowiednich właściwościach mechanicznych. Zarówno polimery syntetyczne jak i naturalne są szeroko stosowane do otrzymywania takich rusztowań, stąd tematyka rozprawy i cele postawione przez Doktorantkę są aktualne i ciekawe, a otrzymane wyniki dostarczają wielu informacji o charakterze zarówno naukowym jak i praktycznym.

Głównym celem jaki postawiła sobie Doktorantka było wytworzenie i scharakteryzowanie trójwymiarowych struktur odwzorowujących kompleksową strukturę i właściwości tkanki chrzęstno-kostnej. Doktorantka zastosowała techniki biodruku 3D i osadzania topionego materiału wytwarzając substytuty tkanek chrzęstnych: niezwapniałej i zwapnionej oraz kości podchrzęstnej. Wytworzone struktury były wykorzystane do złożenia w trójwymiarowe rusztowanie. Warto nadmienić, że techniki biodruku 3D są obecnie szeroko badane i rozwijane pod kątem uzyskania odpowiednich materiałów do inżynierii tkankowej.

A.Sionk

Przedstawiona do recenzji praca napisana jest po angielsku, ale zawiera również streszczenie w języku polskim. Zawarta jest na 195 stronach maszynopisu. Podzielona jest na rozdziały wg schematu ogólnie przyjętego dla tego typu prac. Zawiera streszczenie (abstrakt), wprowadzenie ogólne, część teoretyczną, która jest przeglądem literatury, cele pracy oraz część eksperymentalną. W części teoretycznej autorka opisuje budowę tkanki chrzęstno-kostnej, dostępne obecnie opcje leczenia jej uszkodzeń, a także metody otrzymywania trójwymiarowych rusztowań dla potrzeb inżynierii tkankowej. W rozdziale drugim Doktorantka zawarła cele i zakres pracy. Część doświadczalną stanowią cztery opublikowane artykuły, w których Doktorantka wykazała swój znaczący udział. Są to następujące artykuły:

1. Kosik-Kozioł A., Costantini M., Bolek T., Szoke K., Barbetta A., Brinchmann J., Świąszkowski W. *PLA short sub-micron fiber reinforcement of 3D bioprinted alginate constructs for cartilage regeneration*. *Biofabrication* 2017; 9: 044105. IF=7,236 (140 pkt. MNiSzW).
2. Kosik-Kozioł A., Costantini M., Mroz A., Idaszek J., Heljak M., Jaroszewicz J., Kijenska E., Szoke K., Frerker N., Barbetta A., Brinchmann J.E., Świąszkowski W. *3D bioprinted hydrogel model incorporating beta-tricalcium phosphate for calcified cartilage tissue engineering*. *Biofabrication* 2019; 11: UNSP 035016. IF=7,236 (140 pkt. MNiSzW).
3. Kosik-Kozioł A., Graham E., Jaroszewicz J., Chlanda A., Kumar P.T.S., Ivanovski S., Świąszkowski W., Vaquette C. *Surface modification of 3d printed polycaprolactone constructs via a solvent treatment: impact on physical and osteogenic properties*. *ACS Biomaterials Science & Engineering* 2019; 5: 318 SI. IF=4,511 (140 pkt. MNiSzW).
4. Kosik-Kozioł A., Heljak M., Świąszkowski W. *Mechanical properties of hybrid triphasic scaffolds for osteochondral tissue engineering*. *Materials Letters* 2020; 261: 126893. IF=3,019 (70 pkt. MNiSzW).

Każdy z tych artykułów stanowi odpowiednio rozdziały 3, 4, 5 i 6.

Obszerny spis literatury zawarty jest na stronach od 153 do 182. Autorka cytuje aż 431 pozycji literaturowych, które są dobrze dobrane i prawidłowo wykorzystane. Warto w tym miejscu zaznaczyć, że Autorka cytuje głównie prace z ostatnich lat publikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych.

Podsumowanie i wnioski końcowe zajmują 4 strony i stanowią rozdział 7 dysertacji. W rozdziale tym zawarto również uwagi na co warto zwrócić uwagę w przyszłości.

Do wytworzenia rusztowania odwzorowującego strukturę i funkcje miękkiej i elastycznej, niezwapniałej tkanki chrzęstnej Doktorantka wykorzystwała alginian sodu wzmocniony włóknami polilaktydowymi (rozdział 3 dysertacji). Zastosowana została tutaj technika biodrukowania 3D połączona z natryskowym systemem sieciowania hydrożeli. Kompleksowa charakterystyka tych materiałów dokonana przez Doktorantkę wskazała, że dodatek wypełniaczy poprawił właściwości mechaniczne rusztowań i zmniejszył stopień ich spęcznienia. Badania komórkowe z wykorzystaniem komórek chrzęstnych (chondrocytów)

osadzonych na otrzymanych materiałach potwierdziły ich potencjalne zastosowanie dla inżynierii tkankowej.

W ramach rozprawy doktorskiej opracowano również zwapniały substytut tkanki chrzęstnej (rozdział 4 dysertacji). W tym celu wykorzystano alginian sodu i zmetakrylowaną żelatynę w połączeniu z ceramicznymi cząstkami fosforanu β -trójwapniowego. Zastosowano tu proces biodrukowania przy użyciu współosiowego systemu igieł do sieciowania hydrożeli. W badaniach *in vitro* oceniono zdolność różnicowania ludzkich komórek macierzystych szpiku kostnego w hipertroficzne chondrocyty powszechnie występujące w zwapniałym regionie natywnej chrząstki.

Doktorantka zajmowała się również otrzymywaniem twardej i sztywnej tkanki podchrzęstnej. Wykorzystała drukowanie metodą osadzania topionego materiału do wytworzenia porowatej struktury substytutu kości. Badania *in vitro* wskazały na duży potencjał otrzymanych materiałów do regeneracji części kości podchrzęstnej. Wyniki tych badań i ich dyskusja stanowią rozdział 5 dysertacji.

W ostatniej części rozprawy (rozdział 6) Doktorantka opisała wytworzenie trójwymiarowego rusztowania do regeneracji tkanki chrzęstno-kostnej. W ocenie recenzenta był to etap najtrudniejszy. W tym etapie Doktorantka wytworzyła trójwymiarowe rusztowania składające się z trzech opracowanych wcześniej rusztowań imitujących odpowiednio niezwapniałą tkankę chrzęstną, zwapniałą tkankę chrzęstną oraz kość podchrzęstną. W ten nowatorski sposób uzyskano nowy hybrydowy materiał o potencjalnym zastosowaniu jako substytut tkanki chrzęstno-kostnej.

Reasumując, Autorka uzyskała ciekawe wyniki, które w jasny sposób przedstawiła najpierw w 4 artykułach, które zostały opublikowane w czasopiśmie o wysokim wskaźniku oddziaływania (IF od 3,019 do 7,236), a następnie je przedyskutowała poprawnie w ramach przedstawionej rozprawy doktorskiej. Opublikowanie wyników w renomowanych czasopiśmie naukowych oznacza, że zostały one już zrecenzowane przez badaczy ściśle pracujących w danej dziedzinie.

Po wnikliwym przeczytaniu pracy doktorskiej rodzą się pytania, które powinny być głębiej przedyskutowane:

1. W pracy doktorskiej otrzymywane rusztowania miały raczej mały rozmiar. Czy możliwe jest otrzymanie materiału o znacznie większych rozmiarach?
2. W jakich warunkach wilgotnościowych i w jakiej temperaturze prowadzono badania mechaniczne poszczególnych rusztowań za pomocą maszyny wytrzymałościowej INSTRON? (brakuje tych informacji w rozdziale 5)
3. Czy planowane są badania *in vivo*? Byłyby one ciekawym uzupełnieniem otrzymanych wyników.

Należy podkreślić, że praca napisana jest bardzo starannie, a błędy literowe występują bardzo rzadko. Ciekawa jest również szata graficzna rozprawy. Styl pisania pracy jest jasny, co sprawia, że pracę czyta się z przyjemnością.

Podsumowując, pragnę stwierdzić, że wymienione przeze mnie uwagi i postawione pytania w żaden sposób nie obniżają wartości merytorycznej pracy, a wyniki są wartościowe i mogą znaleźć praktyczne zastosowanie.

Praca zawiera dużo oryginalnych wyników o potencjalnym zastosowaniu w praktyce, a do najważniejszych osiągnięć rozprawy zaliczam:

1. Wytworzenie rusztowania odwzorowującego strukturę i funkcje miękkiej i elastycznej niezwapniałej tkanki chrzęstnej wykorzystując metodę biodruku 3D.
2. Opracowanie zwapniałego substytutu tkanki chrzęstnej na bazie alginianu sodu i zmetakrylowanej żelatyny w połączeniu z ceramicznymi cząstkami fosforanu β -trójwapniowego.
3. Wytworzenie trójwymiarowego rusztowania składającego się z trzech opracowanych wcześniej przez Doktorantkę rusztowań imitujących odpowiednio niezwapniałą tkankę chrzęstną, zwapniałą tkankę chrzęstną oraz kość podchrzęstną.

Biorąc pod uwagę całość badań, oryginalność i jakość wyników a także rozbudowaną ich dyskusję oraz wartość praktyczną uważam, że praca spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym. Wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Alicji Kosik-Kozioł do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę, że wyniki zostały opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych o dużych czynnikach wpływu oraz wykazują potencjał aplikacyjny wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



Prof. dr hab. Alina Sionkowska