

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Magdaleny Jarosz pt.
Nanoporowaty anodowy tlenek tytanu(IV) jako materiał na implanty kości**

Praca doktorska pani mgr Magdaleny Jarosz dotyczy intensywnie eksplorowanego tematu, jakim jest funkcjonalizacja powierzchni implantów tytanowych, przy zastosowaniu narzędzi nanotechnologicznych.

Tytan i jego stopy to niezwykle popularne, szeroko stosowane w chirurgii kostnej, kardiochirurgii i stomatologii, materiały. Tytan jest materiałem biozgodnym a fakt, że w środowisku biologicznym pokrywa się szybko warstwą tlenkową nadaje mu, nie tylko właściwości antykorozyjne, ale i osteoinduktywne. Pomimo to, materiał ten jest modyfikowany na wiele sposobów w celu nadania mu właściwości antykorozyjnych, atrombogennych czy tzw. bioaktywności w kontakcie z tkanką kostną.

Nanotechnologia otworzyła zupełnie nowe, nie znane do tej pory, możliwości w zakresie modyfikacji tytanu i jego stopów. Jak wiadomo, właściwości fizyczne i chemiczne faz, występujących w dyspersji manometrycznej, są odmienne od fazy macierzystej. Dotyczy to również właściwości biologicznych, co wielokrotnie udowodniono poprzez wysoką aktywność biologiczną nanometrycznych cząstek. Aktywność ta przekłada się czasem na wysoką toksyczność materiałów lub na unikatową, pożądaną z punktu widzenia terapeutycznego, reakcję ze środowiskiem biologicznym. Na rynku medycznym są obecne implanty tytanowe dla kardiochirurgii o niskiej atrombogenności funkcjonalizowane metodami nanotechnologii, pojawiają się coraz liczniej implanty, które modyfikowane są w objętości lub na powierzchni różnymi rodzajami nanocząstek. Przykładem tego może być np. implant stomatologiczny o nazwie NanoTite o specyficznej nanotopografii, dodatkowo modyfikowany bioaktywnymi nanocząstkami. Nie bez kozery, twórcy tego implantu piszą o nim, że *Nano krok dla człowieka to wielki krok dla stomatologii*.

W oparciu o powyższe fakty, należy uznać tematykę pracy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Jarosz, za aktualną i odpowiadającą nowym trendom inżynierii biomateriałów.

Praca doktorska Pani Magdaleny Jarosz to obszerne, blisko 150-cio stronicowe, starannie przygotowane opracowanie naukowe, o charakterze interdyscyplinarnym. Praca łączy w sobie badania chemiczne, elektrochemiczne, materiałowe jak i badania biologiczne w warunkach *in vitro*. W ramach pracy doktorskiej powstała obszerna grupa oryginalnych wyników, uzyskanych w oparciu o klasyczne i nowoczesne narzędzia badawcze. Nie ulega wątpliwości, że wyniki uzyskane w ramach pracy doktorskiej Pani Magdaleny Jarosz, wnoszą istotny przyczynek do wiedzy, związanej z modyfikacją i funkcjonalizacją powierzchni tytanu, przeznaczanego do zastosowań medycznych.

Praca doktorska ma klasyczny układ, zaczyna się zatem od części teoretycznej, po której następuje część doświadczalna, która kończy się posumowaniem oraz spisem artykułów, których Doktorantka jest współautorem, a które dotyczą tematyki realizowanej pracy doktorskiej.

Część teoretyczna pracy doktorskiej jest stosunkowo niewielka, zapewne nie wyczerpująca zagadnień związanych z tematyką pracy, tym samym przedstawiająca niepełny obraz wiedzy, związanej z metalicznymi materiałami implantacyjnymi. Autorka nie porusza szeregu istotnych zagadnień, zwłaszcza związanych ze zjawiskiem bioaktywności materiałów implantacyjnych. Bioaktywność materiałów implantacyjnych to złożone zjawisko, przebiegające na poziomie komórkowym i poza komórkowym, które prowadzi do nukleacji biomimetycznej formy apatytu na powierzchni implantu, w kontakcie z osoczem krwi. Materiały charakteryzujące się tą właściwością, to przede wszystkim bio szkło i hydroksyapatyt. Wszelkie działania, prowadzące do modyfikacji powierzchni implantów metalowych mają za zadanie nie tylko stworzenie na ich powierzchni warstwy zapobiegającej korozji, ale przede wszystkim nadania im właściwości bioaktywnych (osteoindukcyjnych), które mierzy się w warunkach *in vitro*, w sztucznym osoczu krwi, poddając badaniom chemicznym i morfologicznym ich powierzchnie. Zjawisko opisane po raz pierwszy przez *L. Hencha* następnie przez *T. Kokubo* i współautorów i związane z nim procedury badawcze, doczekało licznych opisów modyfikujących, w wyniku których, w oparciu o proste eksperymenty warunkach *in vitro* (*simulated body fluid – inkubacja w SBF*), możemy analizować wszczepy kostne z punktu widzenia ich możliwości, w zakresie tworzenia bezpośredniego połączenia z tkanką kostną.

Materiały dla medycyny to takie tworzywa, które wymagają niezwykle rozbudowanych badań fizycznych, chemicznych i biologicznych i szkoda, że Autorka ich nie wymienia, a tym samym nie tłumaczy celu, w jakim się je prowadzi.

Część teoretyczna pracy zyskałaby zapewne na wartości gdyby Autorka wspomniała w niej o możliwościach, jakie nanotechnologia wprowadziła do wiedzy, związanej z inżynierią biomateriałów, zwłaszcza dziedzinie tzw. *metod materiałowych medycyny regeneracyjnej*. Takie dane byłyby w pełni uzasadnione zwłaszcza, że w pracy omawiane są różne rodzaje nanomateriałów. Zważywszy jednak na fakt, że praca doktorska nie ma typowego układu, jaki stosowany jest w badaniach z dziedziny inżynierii biomateriałów, których celem jest opracowanie określonego rodzaju wszczepu, a raczej wskazanie pewnych nowych możliwości w modyfikacji implantów, powyższe uwagi należy uznać za dyskusyjne, nie wpływające istotnie na wartość pracy.

Część teoretyczna pracy kończy się rozdziałem zatytułowanym; *Cel pracy*, w którym Doktorantka w pięciu punktach przedstawia schemat pracy, natomiast nie formułuje tezy pracy. Dwa pierwsze punkty związane są z badaniami nad wytworzeniem warstw tlenku tytanu, a pozostałe dotyczą, jak pisze Doktorantka, *sprawdzenia* poszczególnych właściwości, wytworzonych materiałów w zakresie uwalniania leków, działań antybakteryjnych oraz odpowiedzi biologicznej w warunkach *in vitro*.

Część doświadczalna zaczyna się od szczegółowego schematu badań, ułatwiającego istotnie lekturę pracy. Część doświadczalna składa się z sześciu rozdziałów. Pierwszy z nich dotyczy wytworzenia nanorurek tytanowych na powierzchni folii tytanowej metodą anodyzacji. Autorka opisała dokładnie prowadzone przez siebie doświadczenia, zbadała morfologie warstw, które wytworzyła w procesie trójstopniowej anodyzacji, a następnie zbadała ich właściwości korozyjne.

Rozdział, dotyczący badań elektrochemicznych, wskazuje na dużą biegłość Doktorantki w dziedzinie pomiarów elektrochemicznych. Należy dodać, że wyniki tej części pracy wskazują jednoznacznie na duży potencjał zastosowanej metody do wytwarzania warstw, o różnej morfologii i odmiennych parametrach fizyko-chemicznych.

Następny rozdział zatytułowany, niestety niezbyt fortunnie; *Zmiana struktury...* to rozdział, w którym Doktorantka opisuje wyniki kalcynacji, wytworzonych przez siebie warstw i opisuje następującą w nich przemianę polimorficzną anatazu w rutyl. Warstwy dwutlenku tytanu wygrzewane były w szerokim zakresie temperatur, rozpoczynając od 400⁰C, aż do temperatury 1000⁰C, w której następuje rozrost ziaren i tekstura powierzchni traci charakterystyczną dla niej nanotopografię. W tej części pracy, zapewne na wyróżnienie

zasługuje sposób prowadzenia analizy dyfrakcyjnej i spektroskopowej (spektroskopia Ramana). W oparciu o wyniki uzyskane tymi metodami, Doktorantka opisuje (również w sposób graficzny) tworzenie się anatazu i jego przejście w fazę rutylu, czyli najbardziej termodynamicznie stabilną odmianę polimorficzną dwutlenku tytanu. W rozdziale tym podane są również kąty zwilżania próbek, zawierających rutyl i anataz oraz fazę określaną, jako amorficzna. Anataz i rutyl to fazy o tzw. sterowanej hydrofilowości, a nawet superhydrofilowości, zjawiska opisywane często w literaturze, co potwierdzają wyniki uzyskane w pracy. Indukowana promieniowaniem UV hydrofilowość, obserwowana zwłaszcza w warstwach, posiadających określoną nanotopografię, jest wynikiem procesów elektronowych, w następstwie których wakancje tlenowe adsorbują na powierzchni grupy OH.

Dalsza część pracy doktorskiej dotyczy badań ściśle związanych z potencjalnym obszarem zastosowań, badanych w ramach pracy, materiałów. Doktorantka w pierwszej kolejności bada bakteriobójczość materiałów modyfikowanych srebrem. Tlenek tytanu należy do materiałów bakteriostatycznych, jak i bakteriobójczych, dlatego też w literaturze jest wiele artykułów, w których autorzy opisują tzw. *synergiczną bakteriobójczość tlenku tytanu i srebra*, uzyskując bardzo pozytywne wyniki. Niemniej jednak, wyniki zamieszczone w pracy, nie potwierdzają tych doniesień.

Najwyżej ze wszystkich rozdziałów w części doświadczalnej oceniam rozdział, który dotyczy immobilizacji leków na porowatej powierzchni tlenku tytanu oraz badania ich kinetyki uwalniania. Doktorantka przedstawiła profile uwalniania leków i ich matematyczną interpretację i wykazała, że tego rodzaju matryce, stanowiące porowate warstwy dwutlenku tytanu, mogą stanowić swoiste nośniki leków. Dodatkowo, w oparciu o uzyskane wyniki, przedstawiony został nowy model kinetyczny, który może z powodzeniem opisywać kinetykę uwalniania leków z matrycy niedegradowalnych.

Ostatni rozdział pracy doktorskiej dotyczy badań *in vitro*, przy zastosowaniu komórek z linii osteoblastopodonych MG63. Rozdział ten jest bardzo rozbudowany, Autorka wykonała szereg skomplikowanych pomiarów i obliczeń, dotyczących przeżywalności, morfologii komórek adherujących do powierzchni badanych materiałów, przeprowadziła badania adhezji i proliferacji komórek. Rozdział ten zapewne świadczy o znajomości metod biologicznej oceny materiałów, wyniki w nim zawarte nie wyczerpują jednak możliwości, jakie stwarzają badania *in vitro* w kontakcie materiałów z komórkami. Jednym z ważnych wniosków wynikających z tej części pracy jest stwierdzenie, że jak się wydaje, stopień uporządkowania materiału (amorficzny/ krystaliczny) to czynnik istotnie wpływający na zachowanie komórek i można przypuszczać, że czynnik ten ma większą wagę w zakresie

wpływu na odpowiedź komórkową, niż topografia powierzchni. Rozdział ten na pewno zyskałby na wartości, gdyby Autorka prowadziła badania biologiczne adresowane do materiałów, przeznaczonych do chirurgii kostnej (*tzw. profil kostny*) i wzbogaciła je o typową dla tego rodzaju badań, analizę czynników wydzielanych przez komórki, chociażby takich, jak fosfataza alkaliczna i innych, powszechnie wykorzystywanych w ocenie materiałów w warunkach *in vitro*. Niemniej jednak, zważywszy na szeroki zakres badań, zawartych w pracy, powyższą uwagę można potraktować raczej w charakterze pewnej sugestii, a nie elementu obniżającego wartość pracy.

Jednakże brak w pracy opisu zjawiska bioaktywności materiałów przeznaczonych do kontaktu z tkanką kostną, jak i brak doświadczeń *in vitro* (SBF), które pozwoliłyby ocenić jego bioaktywność, czyli jednej z kluczowych właściwości materiałów przeznaczonych na implanty kostne należy uznać za pewną słabość recenzowanej pracy.

Praca zredagowana jest poprawnie, wyniki badań w większości przedstawione są w przejrzysty sposób, chociaż Doktorantka nie ustrzegła się pewnych błędów, zwłaszcza związanych z wieloma nieprofesjonalnymi sformułowaniami i dotyczącymi głównie sfery materiałowej pracy, skądinąd częstego błędu, pojawiającego się w pracach o charakterze interdyscyplinarnym.

Pomimo, że praca posiada pewne słabe strony, to jednak oceniam ją wysoko.

Na zakończenie pragnę odnieść się do ostatniej części pracy, jakim jest aneks zawierający dorobek Doktorantki. Należy stwierdzić, że dorobek ten, na który składa 6 publikacji w wysoko notowanych periodykach naukowych (w czterech z nich Doktorantka jest pierwszym Autorem) oraz 22 prezentacje posterowe i jeden wygłoszony na konferencji referat, to **dorobek w pełni predestynujący Panią mgr Magdalenę Jarosz do stopnia doktora nauk chemicznych**. Praca doktorska Pani mgr Magdaleny Jarosz spełnia warunki określone w art.13 z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz.U.z 2003r. nr 65 poz.595). Wnoszę zatem do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Magdaleny Jarosz do publicznej obrony rozprawy.

Marta Błażewicz



