

Kraków, 30.06.2023

Prof. dr hab. Andrzej Kotarba  
Zespół Chemii Powierzchni i Materiałów  
kotarba@chemia.uj.edu.pl  
tel. 12 686 25 09



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

## RECENZJA

pracy doktorskiej **mgr Michaliny Ehlert**

p.t.: „Wytwarzanie i charakterystyka układu:

**implant metaliczny/tlenkowa warstwa pośrednia/hydroksyapatyt  
oraz badanie jego interakcji z ludzkimi, mezenchymalnymi  
komórkami macierzystymi”**

Wydział Chemii

wykonanej w ramach doktoratu wdrożeniowego

w ramach współpracy pomiędzy firmą Nano-implant Sp. z o.o.

i Uniwersytetem Mikołaja Kopernika w Toruniu

promotor rozprawy: **dr hab. Piotr Piszczek, prof. UMK**

promotor pomocniczy: **dr hab. Aleksandra Radtke**

### Tematyka i cel pracy

W dzisiejszym świecie obserwuje się gwałtowny wzrost liczby osób dotkniętych tzw. „chorobami cywilizacyjnymi”, wśród których schorzenia układu kostnego są jednymi z bardziej zauważalnych. Dotyczą one nie tylko ludzi starszych, często chorujących na osteoporozę, ale coraz częściej młodych jednostek zmagających się z różnorodnymi urazami i kontuzjami układu kostnego. Stanowi to silną motywację i wyzwanie do prowadzenia badań nad opracowywaniem materiałów implantacyjnych, mogących pełnić funkcje substytutów kości. Dzięki interdyscyplinarnym badaniom, łączącym osiągnięcia chemii, fizyki, inżynierii materiałowej, biologii i medycyny dochodzi obecnie do skokowego postępu w wytwarzaniu różnorodnych biomateriałów. W tym kontekście szczególnie istotne jest projektowanie materiałów na implanty długotrwałe, które umożliwiają odtworzenie

ul. Ingardena 3

PL 30-060 Kraków

tel. +48(12) 633 63 77

fax +48(12) 634 05 15

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl

funkcji tkanek kostnych i prowadzą do trwałego połączenia implant–kość. Dodatkowo materiały te muszą spełniać szereg wymagań dotyczących właściwości mechanicznych czy fizykochemicznych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Michaliny Ehlert nawiązuje bezpośrednio do tych bardzo aktualnych nurtów badawczych. Poświęcona jest bowiem modyfikacji stopu Ti6Al4V, który jest jednym z najczęściej stosowanych metalowych materiałów implantacyjnych, poprzez wytworzenie na jego powierzchni powłoki hydroksyapatytowej. Hipoteza badawcza projektu doktorskiego zakładała otrzymanie funkcjonalnej powierzchni, która będzie działać stymulująco na komórki osteogenne, przyspieszać biointegrację pomiędzy implantem a kością oraz wspomagać regenerację tkanki kostnej.

## **Opis ogólny**

Praca została zredagowana w formie przewodnika (zawierającego osiem rozdziałów) i załączników zawierających ciąg publikacji (pięciu pozycji). Przewodnik obejmuje wprowadzenie literaturowe w tematykę rozprawy, poświęcone biomateriałom ze szczególnym uwzględnieniem materiałów metalicznych i powłok hydroksyapatytowych (Rozdz. 1), zdefiniowanie celu i zakresu pracy (Rozdz. 2), opis układu pracy (Rozdz. 3), streszczenie publikacji, stanowiących podstawę rozprawy (Rozdz. 4), bibliografię (Rozdz. 7), spis osiągnięć naukowych Autorki (Rozdz. 8) oraz załączniki, w których zamieszczono reprinty wszystkich publikacji wchodzących w zakres recenzowanej rozprawy.

Ogólnie zaproponowany przez Autorkę układ rozdziałów jest spójny i podąża zgodnie z wytyczoną osią logiczną (może z wyjątkiem rozdz. 3 Układ pracy - moim zdaniem, ten rozdział lepiej by się sprawdził na samym początku rozprawy).

## Uwagi szczegółowe

Przewodnik jest przygotowany z dużą starannością, opracowany został bardzo solidnie, napisany dobrym, zrozumiałym językiem. W trakcie czytania znalazłem jedynie kilka drobnych błędów, niezręczności, czy też skrótów myślowych (np. str. 29: niezbilansowany ładunek w równaniu (4), str. 31: „... tytan i jego stopy ... są zdolne do tworzenia ...”, str. 51: podpis pod rys. 11 „... SEM przedstawiające ludzie...”). Bardzo doceniam diagramy i tabele zbiorcze wykonane na podstawie danych literaturowych (Rysunki 1-5, Tabela 2). Systematyzują one omawiane problemy i pokazują szerokie horyzonty wiedzy Autorki w tematyce rozprawy. Przegląd literaturowy prowadzi bezpośrednio do celów pracy, które zdefiniowane są jasno, wskazując jednocześnie na następujące po sobie dwa wątki tematyczne (pasywacja powierzchni Ti6Al4V prowadząca do różnej morfologii warstwy tlenkowej oraz wytworzenie powłoki z hydroksyapatytu metodą elektrodpozycji). Autorka co prawda nie wspomina o tym w celach, ale w mojej opinii był również etap III obejmujący ważny element sprawdzania koncepcji poprzez testy biologiczne.

Tak postawione cele wymagały rozległych badań łączących metody fizykochemiczne, materiałowe i biologiczne. *Nota bene* brakło mi w pracy rozdziału z opisem warsztatu badawczego. Bardzo chciałbym się dowiedzieć bezpośrednio z opisu w jakim stopniu Autorka opanowała warsztat eksperymentalny, metodologiczny czy teoretyczny. Opis metod rozproszony jest po wszystkich artykułach i utrudnia uchwycenie całości. Nadmieniając ten fakt w recenzji chciałbym podkreślić, że moim zamiarem nie jest deprecjonowanie przedstawionej dysertacji. Pragnę jedynie zwrócić uwagę Autorki na kwestię komfortu czytelnika i zachęcić do większej dbałości o ten aspekt w przyszłości.

Podstawą pracy doktorskiej jest cykl pięciu artykułów opublikowanych w czasopismach anglojęzycznych (*International Journal of Molecular Sciences*, *Journal of Functional Biomaterials*, *3x Materials*). Wszystkie czasopisma znajdują się na liście *Journal Citation Report*. Mgr Michalina Ehlert jest pierwszym autorem we wszystkich publikacjach. Załączone oświadczenia współautorów potwierdzają dominującą rolę Autorki w przygotowaniu artykułów zarówno pod względem koncepcji jak i realizacji badań. Współczynnik wpływu (*Impact Factor*) publikacji z cyklu doktorskiego zawiera się w przedziale 3,6-4,9. Taki dorobek naukowy można uznać za znaczący na etapie przygotowania pracy doktorskiej. Jednakże opublikowanie wszystkich prac w wydawnictwie MDPI budzi pewien niedosyt.

Do najciekawszych wyników, definiujących osiągnięcia recenzowanej rozprawy doktorskiej i zarazem wskazujące na zawarte w niej elementy nowości, można zaliczyć:

1. Wykazanie, że elektrochemiczne utlenianie podłoży ze stopu Ti6Al4V, prowadzi do wytworzenia na powierzchni amorficznej, nanorurkowej lub nanogąbczastej tlenkowej warstwy pasywnej, przy czym morfologią warstwy można sterować poprzez dobór napięcia procesu.
2. Wykazanie możliwości kontroli właściwości powłok hydroksyapatytowych na powierzchni pasywowanego stopu Ti6Al4V poprzez dobór parametrów procesu osadzania katodowego (gęstości prądu, czasu, temperatury osadzania).
3. Opracowana powłoka hydroksyapatytowa osadzona na nanoporowatej warstwie pośredniej wykazuje dobrą biogodność oraz stymuluje adhezję, proliferację i osteogenne różnicowania się mezenchymalnych komórek macierzystych
4. Wykazanie, że proponowana dwuetapowa metoda modyfikacji powierzchni implantu ze stopu Ti6Al4V, prowadzi do uzyskania

układu: implant/nanoporowata warstwa tlenkowa/hydroksyapatyt, otwierającego nowe ścieżki i możliwości w produkcji implantów o podwyższonych parametrach użytkowych powierzchni.

Zauważone elementy problematyczne, które chciałbym przedyskutować z Autorką w trakcie obrony:

1. Jak różne morfologie pośredniej warstwy tlenkowej wpływają na stan chemiczny powierzchni np. stopnie utlenienia tytanu, zdefektowanie, eksponowane płaszczyzny sieciowe? Parametry te będą miały kluczowe znaczenie na reaktywność powierzchni, a zatem tworzenie wiązań z opracowaną warstwą hydroksyapatytową.
2. Autorka w kilku miejscach przytacza wyniki pomiarów kąta zwilżania. Zwilżalność powierzchni zależy od dwóch czynników: powierzchniowych grup funkcyjnych oraz morfologii. Grupy funkcyjne są też ważnym czynnikiem w kontekście oddziaływania z jonami wapnia czy resztami fosforanowymi. Czy ich rodzaj i stężenie powierzchniowe było przedmiotem rozważań?
3. Do oszacowania średniego rozmiaru nanocząstek stosowano wzór Scherrera. Czy obserwacje mikroskopowe SEM/TEM preparowanych układów potwierdzają wyznaczone rozmiary nanocząstek? Może to mieć istotne znaczenie w kontekście tworzenia warstwy amorficznej dla której nie obserwuje się maksimum dyfrakcyjnych.
4. Funkcjonalizując powierzchnie biomateriałów w kierunku poprawy biogodności należy brać pod uwagę podwyższone ryzyko adhezji bakterii. Proszę o komentarz, czy w projektowanych powierzchniach brano to pod uwagę.

## **Podsumowanie i wniosek końcowy**

Przedstawione uwagi dyskusyjne oraz zauważone drobne niedociągnięcia nie mają żadnego wpływu na moją całościową bardzo pozytywną ocenę rozprawy. Bez wątplenia zawiera ona nowe elementy dotyczące wiedzy w zakresie projektowania i optymalizacji powierzchni materiałów implantacyjnych na bazie Ti6Al4V do zastosowania w produkcji nowej generacji implantów stomatologicznych oraz ortopedycznych. Autorka wykazała się umiejętnościami zarówno preparatyki, charakterystyki, jak i wieloaspektowego testowania wytworzonych w ramach pracy doktorskiej materiałów.

**W podsumowaniu stwierdzam, że mgr Michalina Ehlert przedstawiła rozprawę doktorską, zawierającą wartościowe wyniki naukowe z wyraźnymi elementami nowości. W mojej opinii przedstawiona rozprawa spełnia wszelkie wymagania formalne i zwyczajowe, stawiane pracom doktorskim przez Ustawę Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). Wnoszę zatem do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o przyjęcie pracy i dopuszczenie jej Autorki do publicznej obrony.**

Jednocześnie biorąc pod uwagę wyjątkowo szeroki, jak na pracę doktorską, zakres przeprowadzonych badań, ich interdyscyplinarny charakter, wysoki walor aplikacyjny poparty opisem wdrożenia wnoszę również o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Michaliny Ehlert.

*A. Kotarba*