**AGH**AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki

KATEDRA BIOMATERIAŁÓW I KOMPOZYTÓW

Dr hab. inż. Kinga Pielichowska, prof. AGH

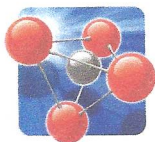
Kraków, 1.09.2023

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Jakuba Włodarczyka
pt. „Elektroprzędzone dwustrumieniowo poliestrowo-poliuretanowe włókny do
zastosowań w leczeniu przepuklin”**

Praca doktorska Pana mgr inż. Jakuba Włodarczyka pt. „Elektroprzędzone dwustrumieniowo poliestrowo-poliuretanowe włókny do zastosowań w leczeniu przepuklin” została wykonana w Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk w Zabrze. Promotorem pracy był Pan prof. dr hab. inż. Janusz Kasperczyk, a promotorem pomocniczym Pan dr Michał Sobota.

Znaczenie problematyki

Tematyka przedstawionej do oceny pracy doktorskiej związana jest z otrzymywaniem siatek chirurgicznych do leczenia przepuklin metodą elektroprzędzenia dwustrumieniowego z wykorzystaniem różnych rodzajów polimerów, tak więc dotyczy istotnych kwestii leczenia chirurgicznego przepuklin, które dotyczą każdego roku miliony ludzi na całym świecie. Istotnym wsparciem procesu leczenia chirurgicznego, mającym na celu m.in. zapobieganie nawrotom tworzenia się przepuklin, jest wprowadzanie siatek wykonywanych głównie z materiałów polimerowych. Badania mające na celu otrzymanie siatek o pożądanych właściwościach trwają w różnych ośrodkach na całym świecie już od wielu lat. Jednakże, pomimo że pierwsza siatka chirurgiczna została otrzymana już w latach pięćdziesiątych ubiegłego wieku, jak dotąd nie udało się opracować siatki o optymalnych właściwościach. Wynika to z konieczności spełnienia szeregu kryteriów, zarówno materiałowych, jak i biologicznych, wśród których wymienić należy odpowiednie właściwości mechaniczne,

**WIMiC****Akademia Górniczo-Hutnicza | Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Biomateriałów i Kompozytów**al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków,
tel. +48 12 617 44 47, fax +48 12 12 617 33 71
e-mail: biomat@agh.edu.pl

obojętność biologiczną, brak niekorzystnej odpowiedzi komórkowej oraz integrację z uszkodzonymi strukturami biologicznymi. Jednocześnie siatki nie powinny powodować tworzenia się zrostów z otrzewną lub innymi narządami oraz sprzyjać tworzeniu się infekcji bakteryjnych. Zatem otrzymanie siatki chirurgicznej o pożądanych właściwościach stanowi duże wyzwanie dla chemików i inżynierów materiałowych, wymagając interdyscyplinarnego podejścia do projektowania, otrzymywania i badania kluczowych właściwości otrzymywanych wyrobów medycznych. W świetle przedstawionych informacji, wybór tematyki badawczej recenzowanej pracy wydaje się być jak najbardziej uzasadniony.

Układ rozprawy doktorskiej i zastosowane piśmiennictwo

Rozprawa doktorska Pana mgr inż. Jakuba Włodarczyka jest bardzo obszerna i liczy łącznie 226 stron. Składa się z osiemnastu głównych rozdziałów i dodatków. Na początku pracy przedstawiony został spis treści, spis rysunków, streszczenie w języku angielskim oraz wykaz stosowanych skrótów, który ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z treścią pracy. Zasadnicza część pracy rozpoczyna się od wstępu, po którym zaprezentowana została część literaturowa pracy (rozdziały 2-6). W rozdziale ósmym przedstawiona została hipoteza badawcza oraz cel pracy, a w rozdziale dziewiątym zaprezentowano zakres pracy. W kolejnych rozdziałach znajduje się część doświadczalna zawierająca zestawienie używanych materiałów, odczynników i zastosowanych metod badawczych oraz opis procedur badawczych stosowanych na różnych etapach realizacji pracy, w tym otrzymywania włókien metodą elektroprzędzenia dwustrumieniowego. W kolejnych rozdziałach (15, 16) zaprezentowano uzyskane wyniki badań wraz z ich opisem i dyskusją. Rozdział 17 jest podsumowaniem uzyskanych wyników badań, a rozdział 18 zawiera wnioski. Ostatnią część pracy stanowi wykaz cytowanej literatury naukowej.

Część literaturowa pracy obejmuje 50 stron i zawiera podstawowe informacje dotyczące problematyki badawczej poruszanej w niniejszej dysertacji. Pierwszy rozdział poświęcony został siatkom chirurgicznym stosowanym w leczeniu operacyjnym przepuklin. W następnym rozdziale przedstawiono najważniejsze informacje dotyczące biomateriałów polimerowych, ze szczególnym uwzględnieniem polimerów, które w dalszej części pracy posłużyły do otrzymania siatek chirurgicznych, tj. polilaktydu (PLA), poliglikolidu (PGA), poli(laktydu-co-glikolidu) (PLGA), poli(ϵ -kapolaktonu) (PCL), poli(ϵ -kapolakton-co-węglanu trimetyleny) (PCLTMC) oraz poliuretanów. W czwartym rozdziale części literaturowej przedstawiono informacje dotyczące systemów kontrolowanego uwalniania leków, w tym omówiono parametry leków, matrycy polimerowej i formulacji polimerowego systemu uwalniania leków. W kolejnych podrozdziałach tej części pracy przedstawiono informacje dotyczące procesów determinujących kinetykę uwalniania leków, omówiono zagadnienia związane z rozpuszczaniem tych układów, zaprezentowano różne teorie

rozpuszczania oraz informacje dotyczące osmozy i pęcznienia matrycy polimerowej. Następnie opisano wybrane modele matematyczne procesu uwalniania leków, m.in. modele kinetyki rzędu zerowego i pierwszego, model Higuchiego, Hixona-Corwella, Korsmeyera-Corrigana, Hopfenberga oraz inne sposoby analizy i opisu kinetyki uwalniania leków. Rozdział piąty części literaturowej dotyczy procesów degradacji polimerów biodegradowalnych, a rozdział szósty poświęcono charakterystyce procesu elektroprzędzenia. Część literaturowa stanowi szerokie, dobrze opracowane kompendium informacji dotyczących zarówno biomateriałów biodegradowalnych, jak i systemów uwalniania leków, będąc jednocześnie rzeczowym i kompetentnym wprowadzeniem do zagadnień i problemów poruszanych w dalszych rozdziałach pracy. Dodatkowym atutem tej części pracy są pojawiające się tabele zawierające zestawienia i podsumowania informacji dotyczących poruszanych zagadnień (np. w Tab. 9 przedstawiono sposoby wprowadzania leków do włókien otrzymanych metodą elektroprzędzenia). Wykaz literatury liczy 273 pozycje. Należy zwrócić uwagę, że Doktorant pisząc pracę korzystał głównie z najnowszych doniesień literaturowych opublikowanych w uznanych czasopismach anglojęzycznych w ostatniej dekadzie. Dobór źródeł literaturowych jest w pełni poprawny i zgodny z omawianą tematyką badawczą.

Praca napisana jest poprawnym językiem, uwagę zwraca bardzo staranna strona edytorska pracy. Autor nie ustrzegł się jednak drobnych błędów, przy czym należy podkreślić, że ilość błędów edytorskich jak na tak obszerną pracę jest bardzo mała. W odniesieniu do tej części pracy nasuwają się pewne uwagi:

- Str. 32: w odniesieniu do grupy -NCO powinno się mówić o grupie izocyjanianowej, zamiast cyjanianowej;
- Budowa poliuretanów: używa się raczej określenia segmenty sztywne i giętkie (czy fragment łańcucha polimerowego może być miękki czy jest raczej giętki?), które na skutek separacji fazowej tworzą odpowiednio domeny twarde i miękkie;
- W przypadku pianek poliuretanowych stosuje się określenie „pianki elastyczne” zamiast „miękkie”.

Cel pracy i zastosowana metodyka badawcza

Zasadniczym celem pracy było „zbadanie, czy możliwa jest modyfikacja szybkości uwalniania leku z biodegradowalnej, poliestrowej matrycy w postaci włókniyny, bez zmiany jej właściwości fizycznych oraz chemicznych, a także stabilizacja właściwości mechanicznych włókniyny w czasie degradacji hydrolitycznej”. Zakres realizowanych prac badawczych obejmował:

- przegląd literatury naukowej dotyczącej w szczególności chirurgicznych siatek przepuklinowych, biodegradacji biomateriałów polimerowych oraz systemów kontrolowanego uwalniania leków;
- zbadanie wpływu nanowłókien poliuretanowych o różnej hydrofilowości i właściwościach mechanicznych na wybrane właściwości otrzymywanych układów, w tym na szybkość degradacji hydrolitycznej mikrowłóknin poliestrowych będących nośnikami leków, szybkość uwalniania leków (sirolimusu i soli sodowej diklofenaku), zmianę właściwości mechanicznych włókien na skutek degradacji hydrolitycznej, przenikanie modelowej substancji małocząsteczkowej przez wewnętrzną warstwę włókniny, jak również cytotoksyczność i adhezję fibroblastów na powierzchni otrzymanych włókien.

Prace badawcze realizowane były w trzech etapach:

- otrzymanie włókien poliestrowo-poliuretanowych metodą elektroprzędzenia dwustrumieniowego;
- inkubacja otrzymanych włókien w wodnym roztworze buforowanej fosforanem soli fizjologicznej w temperaturze 37°C przez okres pół roku połączona z monitorowaniem ich właściwości;
- badania in vitro otrzymanych włókien.

W trakcie prowadzenia prac badawczych otrzymane włókniny charakteryzowano za pomocą odpowiednio dobranych metod badawczych: SEM, GPC, HPLC, NMR, DSC. Prowadzono również badania właściwości mechanicznych stosując klasyczną statyczną próbę rozciągania, badano przepuszczalność włókien oraz cytotoksyczność otrzymanych materiałów i adhezję fibroblastów.

Wyniki badań i dyskusja

Na początku części doświadczalnej niniejszej rozprawy doktorskiej zamieszczono opis używanych materiałów i odczynników. W kolejnym rozdziale zamieszczono opis zastosowanych metod badawczych oraz innej wykorzystywanej aparatury badawczej. W tym rozdziale znajduje się również opis procedur otrzymywania włókien metodą elektroprzędzenia dwustrumieniowego zilustrowany odpowiednimi schematami.

W pierwszym etapie badań otrzymywano włókniny o gradientowo zmieniającym się stosunku biodegradowalnego poliestru do poliuretanu, następnie nanoszona była warstwa wyłącznie poliuretanowa i w ostatnim etapie nanoszono warstwę, w której ponownie następowało zwiększanie udziału poliestru w stosunku do poliuretanu. Do poliestru nanoszonego z jednej strony wprowadzano sirolimus, który uwalniając się na skutek biodegradacji poliestru miał zapobiegać tworzeniu się zrostów, podczas gdy do poliestru nanoszonego z drugiej strony włókniny wprowadzono sól sodową diklofenaku, działającą

przeciwbólowo i przeciwzapalnie. Włókniyny otrzymywano stosując trzy różne rodzaje dostępnych handlowo poliuretanów różniące się hydrofilowością (ChronoSil, HydroThane, ChronoFlex). Jako biodegradowalne poliestry używane były poli(D,L-laktyd-co-glikolid) (PDLGA) oraz mieszanina kopolimeru poli(ϵ -kaprolakton-co-węglan trimetylenu) z homopolimerem poli(ϵ -kaprolaktonem) (PCLTMC:PCL).

Otrzymano i poddano badaniom odpowiednio włókniyny PDLGA otrzymane z roztworów w HFIP, zmodyfikowanych za pomocą nanowłókien ChronoSil oraz HydroThane, PDLGA otrzymanych z roztworów w DCM, zmodyfikowanych za pomocą nanowłókien ChronoSil, HydroThane oraz ChronoFlex oraz PCLTMC:PCL, zmodyfikowanych przy wykorzystaniu nanowłókien ChronoSil, HydroThane oraz ChronoFlex. Dla otrzymanych włókniin dokonano analizy morfologii powierzchni włókien, pomiarów absorpcji wody, szybkości erozji, zmian średnich mas cząsteczkowych oraz dyspersyjności zachodzących w wyniku degradacji hydrolitycznej, badania zmian składu molowego poliestru, wyznaczono profile uwalniania leków, dokonano analizy zmian właściwości mechanicznych w czasie inkubacji, przenikania barwnika przez wewnętrzną membranę poliuretanową oraz przeprowadzono badania komórkowe z wykorzystaniem fibroblastów. Wyniki tych badań opisane zostały odpowiednio w rozdziałach 14-16.

W odniesieniu do tej części pracy nasuwają się pytania/komentarze:

- str. 76: dlaczego zmiany właściwości termicznych otrzymanych włókniin wyznaczano na podstawie danych z drugiego ogrzewania DSC, a zatem po usunięciu historii termicznej?
- Str. 85: oprócz temperatury zeszklenia na podstawie danych DSC warto byłoby również wyznaczyć stopień krystaliczności, tam gdzie byłoby to możliwe – pozwoliłoby to na uzyskanie informacji o wpływie inkubacji na procesy rekrytalizacji, co może przekładać się na szybkość procesów biodegradacji i właściwości mechaniczne.
- Rys. 30: przebieg krzywych DSC w zakresie 40-60°C nie wskazuje jednoznacznie, że pojawiający się efekt termiczny pochodzi od przejścia szklistego. W takim przypadku wskazane byłoby przedstawienie również przebiegu pierwszej pochodnej krzywej DSC, szczególnie, że w przypadku materiałów poliuretanowych na krzywych DSC mogą pojawiać się efekty pochodzące zarówno od segmentów sztywnych jak i giętkich, a na krzywych można wówczas obserwować np. dwa przejścia szkliste i dwa piki pochodzące od topnienia odpowiednio obu rodzajów segmentów.
- Rys. 41: jak można wytłumaczyć drastyczny wzrost dyspersyjności PDLGA/Sil)/H po 168 dniach inkubacji, szczególnie, że na wcześniejszych etapach degradacji zachowanie materiału było zbliżone do pozostałych.

Część doświadczalna została poprawnie zaplanowana, a uzyskane wyniki odpowiednio opracowane i właściwie zinterpretowane. Dowiedziono, że możliwe jest otrzymanie przy użyciu zaproponowanej w pracy metodologii obiecujących materiałów pod kątem zastosowań w leczeniu chirurgicznym przepuklin.

Powyższe uwagi krytyczne i komentarze – do dyskusji podczas obrony pracy - nie wpływają jednak na jednoznacznie pozytywną i bardzo wysoką ocenę całej pracy, w której poprawnie zaplanowane i przeprowadzone badania doprowadziły do zrealizowania postawionego na początku celu pracy. Mgr inż. Jakub Włodarczyk otrzymał metodą elektroprzędzenia dwustrumieniowego szereg włókien o gradientowo zmieniającym się udziale poszczególnych składników i właściwościach, wychodząc z różnych rodzajów poliestrów i poliuretanów, przy czym poliestry modyfikowane były odpowiednimi lekami. W kolejnych etapach przeprowadził kompleksowe badania włókien monitorując zmiany ich właściwości w czasie półrocznej inkubacji w wodnym roztworze buforowanej fosforanem soli fizjologicznej. Opis zrealizowanych prac dowodzi, że Kandydat swobodnie porusza się zarówno w obszarze badania i formowania polimerów, jak również posiada wiedzę w zakresie charakteryzowania biomateriałów polimerowych przy użyciu różnych technik badawczych. Wskazuje to na gruntowne i właściwe przygotowanie do prac badawczych oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktoranta w uprawianej dyscyplinie nauki.

Głównym osiągnięciem mgr Włodarczyka stanowiącym oryginalne rozwiązanie problemu naukowego jest potwierdzenie możliwości otrzymania metodą elektroprzędzenia dwustrumieniowego częściowo biodegradowalnych włókien, charakteryzujących się stopniowym uwalnianiem leków z użytych poliestrów oraz wykazujących korzystne właściwości pod kątem dalszych zastosowań w leczeniu chirurgicznym przepuklin.

Wnioski końcowe

Wyniki przeprowadzonych badań, opisane w recenzowanej pracy, mają duże znaczenie naukowe i wnoszą istotny wkład w wiedzę w zakresie otrzymywania i badania zaawansowanych i wielofunkcyjnych siatek chirurgicznych do leczenia przepuklin. Uzyskana wiedza stanowi element nowości naukowej i może w przyszłości w znacznym stopniu przyczynić się do opracowania nowoczesnych i efektywnych rozwiązań w chirurgii jamy brzusznej, co jest istotne m.in. w kontekście poprawy skuteczności leczenia przepuklin, komfortu i bezpieczeństwa pacjentów oraz dostarczenia chirurgom nowoczesnych rozwiązań materiałowych. Tematyka rozprawy dobrze wpisuje się w aktualne trendy w badaniach zarówno w obszarze nauk chemicznych oraz inżynierii materiałowej i biomedycznej.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr inż. Jakuba Włodarczyka pt. „Elektroprzędzone dwustrumieniowo poliestrowo-poliuretanowe włókniny do zastosowań w leczeniu przepuklin” spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2020 poz. 85, wraz z późniejszymi zmianami) i wnioskuję o dopuszczenie Pana mgr inż. Jakuba Włodarczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, ze względu na bardzo szeroki zakres wykonanych badań połączony z dokładną charakterystyką otrzymanych układów oraz wysoce innowacyjny charakter przeprowadzonych prac wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Jakuba Włodarczyka.

Kinga Pielińska