



AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW I KOMPOZYTÓW
Prof. dr hab. inż. Elżbieta PAMUŁA

Kraków, 18 listopada 2024

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. inż. Rafała Podgórskiego
pt. *"Opracowanie procesu produkcji prototypowych
wielofunkcyjnych materiałów kompozytowych do regeneracji
tkanki kostnej przy użyciu technik druku 3D"*
zrealizowanej pod kierunkiem
Promotora prof. dr. hab. inż. Tomasza Ciacha
i Promotora pomocniczego dr. inż. Michała Wojasińskiego

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej
Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Warszawskiej
z dnia 17 września 2024
oraz zlecenia Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny
Inżynieria Chemiczna Prof. dr. hab. inż. Tomasza Sosnowskiego
z dnia 23 września 2024

W ostatnich dwóch dekadach ma miejsce intensywny rozwój technologii przyrostowych, które wykorzystuje się w wielu dziedzinach przemysłu, ale również pokłada się w nich duże nadzieje w zakresie produkcji implantów i innych wyrobów medycznych. Bardzo duży potencjał mają techniki druku 3D oparte na formowaniu wyrobów ze stopionego filamentu polimerowego (ang. *fused deposition modeling*, FDM, *fused filament fabrication*, FFF), z uwagi na to, że nie wymagają dużej ilości surowców wsadowych, co np. jest ograniczeniem technik opartych na procesach wtrysku lub wytłaczania polimerów czy kompozytów o osnowie polimerowej.



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 48, fax. +48 12 617 33 71
e-mail: epamula@agh.edu.pl, www.ceramika.agh.edu.pl
Regon: 000001577, NIP: 675 000 19 23

Dodatkową zaletą techniki FDM/FFF jest możliwość otrzymywania wyrobów z nie tylko z czystych polimerów ale i ich mieszanin, również zmodyfikowanych związkami biologicznie aktywnymi, a ponadto z kompozytów polimerowo-ceramicznych, jednak wytwarzanie takich filamentów jest bardzo trudne i wymagające zaprojektowania odpowiednich urządzeń oraz optymalizacji procesu produkcyjnego.

Biorąc pod uwagę powyższe przesłanki mgr inż. Rafał Podgórski w ramach swojej rozprawy doktorskiej podjął się opracowania procesu wytwarzania rusztowań polimerowych i kompozytowych przeznaczonych do regeneracji tkanki kostnej z wykorzystaniem technologii przyrostowych FDM/FFF. Prace swoje rozpoczął od zaprojektowania urządzenia do pneumatycznego wytłaczania filamentów z polimerów i kompozycji polimerowo-ceramicznych, które następnie zostały przetworzone w rusztowania metodą druku 3D. Następnie w celu zweryfikowania i potwierdzenia ich przydatności w medycynie scharakteryzował ich skład, mikrostrukturę, właściwości fizyko-chemiczne i biologiczne *in vitro* w kontakcie z komórkami kostnymi. Doktorant postawił tezę, że polimerowe i polimerowo-ceramiczne filamenty mogą być otrzymywane dzięki zastosowaniu wytłaczania pneumatycznego i mogą posłużyć do drukowania rusztowań o właściwościach korzystnych do odbudowy i leczenia ubytków tkanki kostnej.

Aby zrealizować założone cele i udowodnić wszechstronność zaprojektowanego przez siebie urządzenia i podejścia do tematyki produkcji rusztowań, mgr inż. Rafał Podgórski zaprojektował szereg układów, które bazowały na filamentach z: (i) polilaktydu (PLA) pokrywanych poliwinilopirrolidonem (PVP), (ii) poli(ϵ -kaprolaktonu) (PCL) zawierających zmodyfikowane stearynianem wapnia nanocząstki hydroksyapatytu (nHAp), (iii) PCL z dodatkiem poli(glikolu etylenowego) (PEG), oraz iv) PCL lub PLA zmodyfikowanych adenozyną.

Uważam, że wybór tematyki rozprawy doktorskiej jest trafny, aktualny i bardzo dobrze uzasadniony. Tytuł rozprawy: "*Opracowanie*

procesu produkcji prototypowych wielofunkcyjnych materiałów kompozytowych do regeneracji tkanki kostnej przy użyciu technik druku 3D” został właściwie sformułowany i wskazuje, że praca dobrze wpisuje się w dyscyplinę inżynieria chemiczna.

Praca doktorska mgr. inż. Rafała Podgórskiego liczy w sumie 242 strony i obejmuje część opisową (144 strony) oraz 5 opublikowanych artykułów wchodzących w skład rozprawy. Na początku pracy zamieszczono streszczenie w języku polskim i angielskim, informację o finansowaniu badań, wykaz publikacji autora, listę wystąpień na konferencjach, listę zgłoszeń patentowych oraz wskaźniki bibliometryczne. Następnie autor wprowadził czytelnika w tematykę badawczą rozprawy, sformułował tezy i nakreślił cel badań (Część I, 37 str.), opisał urządzenia i metodykę otrzymywania filamentów kompozytowych (Część II, 13 str.), przedstawiał najważniejsze wyniki i poddał je dyskusji (Część III, 42 str.) oraz je podsumował (1 str.). Na końcu tej części pracy został umieszczony wykaz skrótów, spis tabel i rysunków oraz spis piśmiennictwa obejmującego 190 pozycji. Praca spełnia więc wymagania ustawowe i zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim.

W Części I doktorant opisał budowę i funkcje tkanki kostnej, podkreślając jej budowę mikrostrukturalną, proces regeneracji, choroby i uszkodzenia oraz metody leczenia jej ubytków. Następnie przeszedł do omówienia biomateriałów polimerowych, ceramicznych, i metalowych stosowanych do otrzymywania implantów kości. Dalej skupił się na metodach otrzymywania implantów porowatych za pomocą klasycznych metod przetwórstwa materiałów, po czym przeszedł do metod przyrostowych. Z uwagi na tematykę doktoratu dużo miejsca poświęcił technice druku z topionego filamentu, ale też opisał metody stereolitograficzne, proszkowe i biodruk. W części dotyczącej biodruku autor napisał: *„za pomocą tej techniki można otrzymać ucho, pęcherz moczowy a nawet nerkę”*. I tu chciałabym poprosić o komentarz w czasie publicznej obrony dotyczący funkcjonalności otrzymanych konstrukcji komórkowo-materiałowych uzyskanych metodą biodruku – czy na tym etapie rozwoju tej technologii możliwe jest wytwarzanie funkcjonalnych narządów oraz

części ciała człowieka? Czy nie jest to aby nadinterpretacja wyników prezentowanych w literaturze? Nie ma większych uwag krytycznych do tej części pracy, może poza tą, że autor używa terminu „organy”, mając na myśli „narządy” człowieka, a terminy te nie są tożsame. W dalszej części tego rozdziału doktorant opisał dodatki do implantów kostnych otrzymywanych metodą druku 3D, takie jak czynniki wzrostu, jony np. strontu, krzemu, cynku, kobaltu, czy adenozyne oraz wspomniał o metodach modyfikacji powierzchni. Z przedstawionego stanu wiedzy wynika, że techniki przyrostowe bazujące na druku rusztowań z topionego filamentu mają wiele zalet, gdyż pozwalają na kształtowanie implantów kostnych nie tylko pod względem architektury, mikrostruktury ale i składu fazowego oraz budowy chemicznej powierzchni. A kolejną bardzo ważną ich cechą jest, że prace można prowadzić na niewielkiej ilości materiału, co istotnie ogranicza kosztocłonność całego procesu i generuje mało produktów odpadowych.

Następnie kandydat do stopnia doktora postawił tezy badawcze, obie dotyczące wytłaczania pneumatycznego filamentów. Uważam, że zostały one właściwie sformułowane. Dalej przedstawił cel główny i cele szczegółowe obejmujące opracowanie urządzenia do wytłaczania pneumatycznego filamentów oraz jego przydatność do otrzymywania filamentów o różnym składzie, z których potem były drukowane rusztowania do regeneracji tkanki kostnej. Również do tak zdefiniowanych celów pracy nie mam zastrzeżeń.

W Części II opisano pneumatyczne urządzenie do produkcji filamentów przeznaczonych do druku rusztowań w technologii FDM/FFF, które dzięki swojej prostocie i niskim koszcie elementów składowych może w mojej opinii być łatwo skomercjalizowane. Czy doktorant to rozważał? Urządzenie to może być stosowane do produkcji filamentów z polimerów i kompozytów polimer-cząstki ceramiczne o różnym udziale napełniacza, aż do 50% wag. Chciałabym też podkreślić, że w celu zapewnienia wysokiej dyspersji cząstek w matrycy polimerowej autor zaproponował ich zawieszanie w rozpuszczonym polimerze, odlewanie folii, które po pocięciu trafią

do opracowanej wyłaczarki filamentu. Badania mikroskopowe wykazały, że metoda ta jest skuteczna a cząstki rozmieszczone są homogenicznie w filamencie, a potem w gotowym wydruku. Opracowane filamenty nie były cytotoksyczne, co udowodniono prowadząc badania *in vitro*.

W Części 3 doktorant przedstawił wyniki badań właściwości rusztowań z różnych typów filamentów otrzymanych na skonstruowanym urządzeniu i opisanych w poprzedniej części.

Najpierw autor zaprezentował wyniki modyfikacji folii PLA i filamentów PLA za pomocą PVP, która wymagała uprzedniego wytrawienia powierzchni kwasem azotowym i wykorzystania reakcji typu Fentona. Niektóre z modyfikacji okazały się cytotoksyczne, a niektóre nie, co było oznaczane techniką pośrednią, tj. poprzez hodowle komórek fibroblastycznych L929 w ekstraktach z badanych materiałów. Tu nasuwają mi się dwa pytania do dyskusji w czasie obrony: (1) Dlaczego zastosowano PVA do modyfikacji PLA i czy są jakieś doniesienia literaturowe dowodzące, że może on wspomagać adhezję komórek? (2) Czy autor hodował komórki bezpośrednio na takich rusztowaniach, albo czy planuje przeprowadzenie takich badań w przyszłości?

Następnie doktorant opisał otrzymywanie rusztowań z kompozytu PCL – nHAp o różnej geometrii, tj. płytek lub pręcików. W tym przypadku w celu poprawienia dyspersji nanocząstek w matrycy PCL, wytworzył na ich powierzchni warstwę stearynianu wapnia. Chciałabym poprosić o wyjaśnienia jak przebiegała ta modyfikacja, bo nie jest dla mnie jasne zdanie ze str. 76 „*W tym celu zbadano zastosowanie wodnego roztworu sodu do utworzenia monowarstwy stearynianu wapnia na powierzchni nHAp*”. W otrzymanych filamentach i wydrukach nanocząstki nHAp były rozmieszczone homogenicznie, co miało też wpływ na właściwości mechaniczne (wzrost modułu Younga dla udziału wagowego nHAp 50%). Badania na ekstraktach z komórkami L929 i w bezpośrednim kontakcie z komórkami MG63 nie wykazały cytotoksyczności otrzymanych rusztowań, które stanowiły bardzo dobre podłoże do ich

adhezji i proliferacji. Badania na mezenchymalnych komórkach macierzystych wykazały, że na rusztowaniach dochodzi do ich różnicowania osteogennego, co wykazano w badaniach aktywności ALP i ekspresji genów.

W dalszej części opracowano sposób otrzymywania rusztowań z PCL zmodyfikowanych nanocząstkami β -TCP z wygenerowaną mikroporowatością dzięki wypłukaniu z nich uprzednio wprowadzonego PEG. Uzyskane rusztowania cechuje wysoka elastyczność, duża ekspozycja nanocząstek, co wykazano za pomocą testu z czerwienią alizarynową, a także cytozgodność w kontakcie z komórkami kostnymi.

Ostatnia grupa badań dotyczyła rusztowań PCL i PLA zawierających adenozyne. Badania potwierdziły obecność adenozyne w otrzymanych rusztowaniach, które również nie były cytotoksyczne i sprzyjały adhezji i proliferacji komórek kostnych.

W podsumowaniu pracy doktorant stwierdził, że obie tezy postawione na początku zostały zweryfikowane pozytywnie, z czym również się zgadzam.

Teraz chciałabym odnieść się do załączonych artykułów doktoranta, które stanowią cykl publikacji, będący podstawą do uzyskania stopnia doktora.

W publikacji 1 (R. Podgórski, M. Wojasiński, T. Ciach, *Pushing Boundaries in 3D Printing: Economic Pressure Filament Extruder for Producing Polymeric and Polymer-Ceramic Filaments for 3D Printers*, HardwareX 16, e00486, 2023, IF₂₀₂₃=2,0), która dotyczy konstrukcji wylączarki do filamentu, doktorant jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym, co bezsprzecznie wskazuje na jego wiodącą rolę w tym osiągnięciu.

W publikacji 2 (R. Podgórski, M. Wojasiński, E. Trepkowska-Mejer, T. Ciach, *A simple and fast method for screening production of polymer-ceramic filaments for bone implant printing using commercial fused deposition modelling 3D printers*, Biomaterials Advances, Volume 146, 213317, 2023, IF₂₀₂₃=5,5), która dotyczy wytwarzania filamentów z PLA i PCL z β -TCP, doktorant jest

pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym, co również bezsprzecznie wskazuje na jego wiodącą rolę w tym osiągnięciu.

Wkład doktoranta w przygotowanie publikacji 3 (P. Kowalczyk, P. Trzaskowska, I. Łojarczyk, R. Podgórski, T. Ciach, *Production of 3D printed polylactide scaffolds with surface grafted hydrogel coatings*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 179, 136–142, 2019, IF₂₀₂₃=5,5) obejmuje wytworzenie filamentu PLA z pokryciem PVA.

W przypadku publikacji 4 (M. Wojasiński, R. Podgórski, P. Kowalczyk, J. Latocha, K. Prystupiak, O. Janowska, S. Gierlotka, M. Staniszevska, T. Ciach, P. Sobieszuk, *Mechanically suitable and osteoinductive 3D-printed composite scaffolds with hydroxyapatite nanoparticles having diverse morphologies for bone tissue engineering*, Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials 112, e35409, 2024, IF₂₀₂₃=3,2) doktorant przygotował filament PCL z nHAp, wydrukował rusztowania, brał udział w badaniach właściwości mechanicznych i mikrostrukturalnych oraz przeprowadził badania *in vitro*.

W publikacji 5 (R. Podgórski, M. Wojasiński, A. Małolepszy, J. Jaroszewicz, T. Ciach, *Fabrication of 3D-Printed Scaffolds with Multiscale Porosity*, ACS Omega 9, 29186-29204, 2024, IF₂₀₂₃=3,7), która opisuje otrzymywanie filamentów i rusztowań z PCL, PEG i β -TCP, kandydat do stopnia doktora jest również wymieniony jako pierwszy autor i autor korespondencyjny.

Podsumowując, chciałabym podkreślić, że dysertacja doktorska mgr. inż. Rafała Podgórskiego pt. *„Opracowanie procesu produkcji prototypowych wielofunkcyjnych materiałów kompozytowych do regeneracji tkanki kostnej przy użyciu technik druku 3D”* spełnia kryteria stawiane kandydatom do stopnia doktora zawarte w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn.zm.). Na wymienione niewielkie niedociągnięcia i niejasności zwróciłam uwagę z racji pełnienia funkcji recenzentki, aby doktorant nie powielał ich w przyszłości w kolejnych swoich pracach. Nie umniejszają one jednak mojej bardzo wysokiej oceny merytorycznej recenzowanej pracy. Pozostałe uwagi i pytania

są zaproszeniem do dyskusji naukowej w trakcie publicznej obrony. Dlatego wnoszę o przyjęcie rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie pana mgr. inż. Rafała Podgórskiego do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Ponadto uważam, że pracę doktorską cechuje bardzo wysoki poziom naukowy, o czym świadczą: 1) zaprojektowanie i zbudowanie urządzenia do wytłaczania filamentów przeznaczonych do druku 3D, oraz 2) wykazanie, że urządzenie to nadaje się do przetwarzania różnych rodzajów polimerów i kompozycji polimerowo-ceramicznych. Na podkreślenie zasługuje też, że opisane w rozprawie wyniki zostały już opublikowane w prestiżowych czasopismach o dużym współczynniku oddziaływania, co oznacza, że już przeszły wnikliwy proces recenzji i zdobyły uznanie środowiska naukowego. W trzech artykułach doktorant jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym, a do pozostałych dwóch wytworzył filamenty za pomocą swojej wyciarki. Kandydat do stopnia doktora, oprócz 5 omawianych publikacji, jest współautorem jeszcze kolejnych 10 publikacji w czasopismach z bazy JCR. Ponadto prezentował wyniki swoich badań osobiście aż na 8 konferencjach naukowych. Do tego należy doliczyć 9 kolejnych prezentacji ustnych i plakatowych, których był współautorem. Doktorant pracował projektach: NCN Preludium, NCBiR M-ERA.NET2, projekcie IDUB Politechniki Warszawskiej i w ramach Grantu Dziekańskiego. Pan mgr inż. Rafał Podgórski wykazuje się wyróżniającą aktywnością naukową i może pochwalić się bardzo dobrym dorobkiem, jak na ten etap rozwoju naukowego. Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że praca doktorska mgr. inż. Rafała Podgórskiego zasługuje na wyróżnienie.