

Gliwice, dn. 26.01.2024 r.

## Recenzja pracy doktorskiej

**Pani mgr Pauliny Chytrosz-Wróbel**

zatytułowanej

*„Functionalization of polymeric biomaterial surfaces:  
functional groups and bioactive substances”*

Recenzja dotyczy pracy doktorskiej Pani mgr Pauliny Chytrosz-Wróbel realizowanej w Zespole Elektrochemii w Grupie Chemii Powierzchni i Materiałów Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Promotorem rozprawy doktorskiej jest Pan Prof. dr hab. Andrzej Kotarba, a promotorem pomocniczym jest Pani dr inż. Monika Gołda-Cępa.

Podstawą formalną wykonania recenzji jest pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego, Pana prof. dr hab. Artura Michalaka z dnia 29 listopada 2023 r.

Przedstawiona mi do recenzji praca jest cyklem pięciu artykułów naukowych opublikowanych w prestiżowych, zagranicznych czasopismach: dwie prace w czasopiśmie ACS Biomaterials Science and Engineering (IF: 5,7), oraz po jednej pracy w czasopismach: Applied Surface Science Advances (IF: 6,2), jedna praca w ACS Applied Nano Materials (IF: 5,9) oraz Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine (IF: 5,4). W czterech pierwszych pracach Pani Paulina Chytrosz-Wróbel jest pierwszym autorem, a ostatniej pracy wchodzącej w cykl publikacji, Pani Chytrosz-Wróbel jest na drugim miejscu. Do rozprawy doktorskiej załączono oświadczenia współautorów o ich wkładzie merytorycznym i udziale procentowym w powstanie powyższych publikacji. Z przedstawionej dokumentacji jasno wynika, że Pani Paulina Chytrosz-Wróbel jest autorem wiodącym. Jej wkład merytoryczny w prowadzonych badaniach naukowych został szczegółowo przedstawiony i nie budzi żadnych wątpliwości. Należy również podkreślić, że Doktorantka zaangażowana była w przygotowanie odpowiedzi na recenzje do przesłanych do czasopism manuskryptów oraz brała udział w końcowych pracach (w tym edycyjnych) dążących do ich opublikowania.

W rozprawie doktorskiej wykazano również trzy kolejne prace, które tematycznie związane są z osiągnięciem naukowym przedstawionym w dysertacji. Prace te opublikowano w bardzo dobrych, zagranicznych czasopismach o wysokim wskaźniku cytowalności.

Rozprawa doktorska Pani Pauliny Chytrosz-Wróbel dotyczy modyfikacji powierzchni biomateriałów polimerowych, które mogą znaleźć zastosowanie jako stent przełyku. Dobrane metody funkcjonalizacji materiałów polimerowych poprzedzono konsultacjami z klinicystami z Krakowskiego Szpitala Specjalistycznego im. Jana Pawła II. Swoją pracę naukową Doktorantka rozpoczęła od szczegółowej analizy materiału już stosowanego w medycynie. Rozpoznanie problemów z jakimi borykają się lekarze oraz pacjenci jest niezbędne do zaprojektowania biomateriału, który oprócz wymaganych właściwości fizykochemicznych, będzie mógł realnie znaleźć zastosowanie w medycynie, ze względu na prawidłowo dobraną technologię jego wytwarzania jak i metodę sfunkcjonalizowania jego powierzchni. Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska porusza kwestie analizy materiałów na poziomie molekularnym jak i aspekty technologiczne co podkreśla, że zaplanowane prace badawcze były dokładnie przemyślane.

Stosowane w medycynie stenty metalowe wykonane są ze stopu tytanu NiTi lub ze stali nierdzewnej 316L. W medycynie można znaleźć również stenty polimerowe lub stenty metalowe pokryte membranami polimerowymi. Poszukiwanie nowych materiałów, aby polepszyć biokompatybilność i właściwości użytkowe stentów przełyku jest wciąż aktualne. Wzrastająca oporność bakterii na dostępne w medycynie antybiotyki jest problemem, który w dużym stopniu odnosi się do nowoczesnych biomateriałów, które powinny być już nie tylko biokompatybilne, ale ograniczające adhezję bakterii i tworzenie biofilmu, lub nawet wykazywać właściwości terapeutyczne. Szczegółowa analiza biomateriałów jest niezbędna, aby znaleźć korelacje pomiędzy jego właściwościami a rezultatem w adhezji i proliferacji komórek jak i bakterii.

**W mojej opinii tematyka badawcza podjęta przez Panią Paulinę Chytrosz-Wróbel jest nowatorką i aktualna.**

Praca doktorska niewątpliwie jest interdyscyplinarna. Przedstawione badania wpisują się w obszar nauk chemicznych, ale również i w obszar badań materiałowych, biologicznych, mikrobiologicznych. Przedstawiono również wyniki teoretycznych rozważań nad procesami termodynamicznymi zachodzącymi w projektowanych układach z nanocząstkami.

Pierwsza publikacja wchodząca w cykl osiągnięcia naukowego dotyczy analizy metalowych stentów z warstwą poliuretanu pobranych od pacjentów (liczba pacjentów wynosiła 16, średnia wieku 59 lat). Po ich oczyszczeniu rozpoczęto badania nad analizą składu chemicznego stosując metodę skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC). Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, niewielkie różnice w składzie chemicznym oraz we właściwościach mechanicznych. Na zmiany te prawdopodobnie wpłynęło zastosowane leczenie onkologiczne pacjenta oraz sama technika wszczepienia biomateriału. Przeprowadzone badania potwierdziły, że stosowany implant ulega degradacji w warunkach *in vivo*, co jednoznacznie wskazuje na zasadność podjęcia przez Doktorantkę badań nad udoskonaleniem stentów metalowych z membraną polimerową.

Do badań wybrano trzy materiały polimerowe: poliuretan, parylen C oraz polietylen o dużej gęstości (HDPE). Wykazano, że zastosowanie tlenowej plazmy niskotemperaturowej z powodzeniem można stosować w modyfikacji powierzchni tych trzech materiałów polimerowych. W wyniku zastosowania zmieniony został skład

chemiczny powierzchni polimerów, co korzystnie wpłynęło na zwiększenie ich zwilżalności powierzchni. Kąt zwilżania oraz napięcie powierzchniowe skorelowano z mocą plazmy niskotemperaturowej oraz z czasem prowadzonego procesu. Analiza składu chemicznego powierzchni techniką spektroskopii fotoelektronów w zakresie promieniowania X, wykazała, że na powierzchni polimeru po zastosowaniu plazmy występowały głównie grupy funkcyjne karboksylowe, karbonylowe i hydroksylowe. Charakterystykę materiałów polimerowych rozszerzono o analizę składu chemicznego stosując spektrometrię mas jonów wtórnych (SIMS), potwierdzając że założone cele w modyfikacji powierzchni polimerów zostały osiągnięte.

Analizując zastosowaną metodykę do funkcjonalizacji materiałów polimerowych nasuwa się pytanie odnośnie stabilności, trwałości utworzonych grup funkcyjnych na powierzchni zmodyfikowanego polimeru. Doktorantka na stronie 32 rozprawy doktorskiej, porusza tę kwestię i przedstawia wyniki badań dotyczące zmiany kąta zwilżania powierzchni polimerów w ciągu 28 dni po ich obróbce w plazmie niskotemperaturowej. Istotne zmiany w zwilżalności powierzchni polimerów wykazano w pierwszych 12 godzinach po zastosowaniu plazmy, gdzie kąt pomiędzy polimerem a kroplą wody wzrósł o  $27^\circ$ . Natomiast w kolejnych dniach, zmiana zwilżalności powierzchni nie była już tak gwałtowna, a kąt zwilżania wyniósł do  $47^\circ$ . Powierzchnia polimerów nadal była hydrofilowa i jest to wynik bardzo dobry. Jednak czy Doktorantka prowadziła badania stabilności dłużej niż 28 dni? Czy temperatura, miejsce przechowywania zmodyfikowanego powierzchniowo polimeru ma znaczenie? Czy materiały polimerowe można ponownie poddać modyfikacji w plazmie i ile takich cykli można wykonać?

Kolejne prace przedstawiają wyniki badań oraz dyskusję nad naniesieniem bioaktywnych cząstek na polimery po procesie w plazmie niskotemperaturowej. Zaproponowano zastosowanie sonochemicznej metody do syntezy bioaktywnych cząstek (o rozmiarze od 30 nm do 50 nm) oraz do ich nanoszenia na powierzchnię polimeru. W mojej opinii dobór związków biologicznych takich jak: gemcytabina, fluorouracyl, cefuroksym, gentamycyna, karbenicylina był trafny, chociaż zastanawia mnie uzasadnienie Doktorantki w zakresie doboru gentamycyny. Siarczan gentamycyny coraz częściej jest poddawany dyskusji w zakresie jego stosowania w leczeniu infekcji septycznych. W pracach wchodzących w cykl publikacji przedstawiono szczegółową analizę powierzchni z naniesionymi cząstkami gentamycyny oraz fluorouracylu.

Zastosowanie plazmy niskotemperaturowej i sonochemicznej metody jest korzystne pod względem funkcjonalizacji implantów o skomplikowanych kształtach. Warunki sonifikacji jak i czas prowadzonego procesu przekłada się na wielkość utworzonych nanocząstek, co szczegółowo omówiono w publikacji nr 4. Skuteczność nanoszenia cząstek bioaktywnych potwierdzono analizując morfologię powierzchni polimeru (głównie parylenu C) metodą skaningowej mikroskopii elektronowej, transmisyjnej mikroskopii elektronowej oraz analizując skład chemiczny powierzchni polimeru. Dodatkowo przeprowadzono symulację dynamiki molekularnej dotyczącą zastosowania sonifikacji do syntezy i nanoszenia cząstek fluorouracylu. Wykazano, że model teoretyczny nieznacznie odbiega od tego, który otrzymano w rzeczywistości w warunkach laboratoryjnych. Tego rodzaju rozważania teoretyczne są niezwykle ważne, szczególnie w obecnych czasach, gdzie możliwości syntezy i analiza powierzchni biomateriałów są coraz większe. Prawidłowa selekcja doboru związków chemicznych, warunków ich otrzymywania i nanoszenia jest korzystna pod względem otrzymania materiału o pożądanym właściwościach fizykochemicznych i biologicznych ograniczając czas na prowadzenie eksperymentów jak i generowaniu odpadów laboratoryjnych.

W przedstawionym cyklu publikacji, w jednej pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące cytozgodności zmodyfikowanego powierzchniowo poliuretanu z komórkami nabłonka linii A549 oraz badania mikrobiologiczne dotyczące określenia liczby zaadherowanych bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus*) oraz Gram-ujemnych (*E. coli*). Czy Doktorantka przeprowadziła badania cytozgodności i badania mikrobiologiczne dla pozostałych dwóch polimerów: parylenu C oraz polietylenu o dużej gęstości (HDPE) po procesie w plazmie niskotemperaturowej?

W publikacji pt.: „*Effect of oxygen plasma-treatment on surface functional groups, wettability, and nanotopography features of medically relevant polymers with various crystallinities*” (publikacja nr 3) przedstawiono wyniki badań dotyczące analizy składu fazowego polimerowych po procesie plazmy stosując technikę dyfrakcji rentgenowskiej. Z opisu metodyki wynika, że grubość analizowanego materiału była w zakresie od 6  $\mu\text{m}$  do 80  $\mu\text{m}$ . Na jakie podłoże oraz jaką metodą zostały naniesione badane polimery? Mając na uwadze zarejestrowane widma można poddać dyskusji wpływ podłoża na zarejestrowane dyfraktogramy. Czy analizę składu chemicznego warstw polimerowych poddano może

analizie nisko kątowej dyfrakcji rentgenowskiej (GIXRD) w celu porównania uzyskanych dyfraktogramów?

Ciekawym uzupełnieniem prowadzonych badań byłby dobór metody sterylizacji uzyskanego biomateriału i przeprowadzenie badań w zakresie adsorpcji białek czy ocena biogodności z krwią w warunkach *in vitro*. Zastanawia mnie, czy Pani Paulina Chytrosz-Wróbel podjęła próby naniesienia polimerów na powierzchnię metalowych stenów i poddała je obróbce w plazmie niskotemperaturowej a następnie naniosła wybrane substancje aktywne metodą sonifikacji.

Wymienione powyżej sugestie i pytania wynikają z mojej ciekawości jako Recenzenta, nie są uwagami do prowadzonych badań. Przedstawiona w pracy analiza otrzymanych materiałów pod względem składu chemicznego, fazowego, chropowatości powierzchni, zwilżalności, analizy energii swobodnej jest bardzo szczegółowa i wnikliwa. Nie mam wątpliwości, że Pani Paulina Chytrosz-Wróbel wykazała się umiejętnościami i wiedzą w zakresie doboru technik instrumentalnych jak i interpretacją uzyskanych wyników.

Dorobek Pani Pauliny Chytrosz-Wróbel obejmuje 8 publikacji w wysoko punktowanych czasopismach z listy JCR, a jej indeks Hircha na dzień sporządzenia recenzji wynosi 4 (wg. Scopus). Pani Paulina Chytrosz-Wróbel aktywnie uczestniczyła w 13-stu konferencjach krajowych i zagranicznych oraz odbyła staż zagraniczny, co podkreśla jej bardzo dobrą aktywność naukową. Przedstawione w pracy wyniki badań finansowane były przez Narodowe Centrum Nauki (DEC-2019/35/D/ST5/03107).

### **Podsumowanie i wnioski końcowe**

Przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską Pani Pauliny Chytrosz-Wróbel oceniam bardzo wysoko. Przedstawiona metodyka badawcza jest spójna, a analiza uzyskanych wyników bardzo wnikliwa. Na uwagę zasługuje również strona edycyjna przygotowanej rozprawy jak i publikacji naukowych. Wyniki prowadzonych badań są czytelnie opisane, a dyskusja (nieraz i krytyczna) bardzo interesująca.

W mojej opinii przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska w pełni spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.) i na tej podstawie wnioskuję do



Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Chytrosz-Wróbel do publicznej obrony oraz dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na bardzo wysoki poziom naukowy prowadzonych badań, wnikliwą analizę otrzymanych wyników oraz dorobek publikacyjny Pani Pauliny Chytrosz-Wróbel będący podstawą niniejszego osiągnięcia, wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie niniejszej dysertacji.



Signed by /  
Podpisano przez:

Alicja Maria  
Kazek-Kęsik

Date / Data:  
2024-01-26 13:24