

Dr hab. inż. Witold Walke, prof. PŚ
Katedra Biomateriałów
i Inżynierii Wyrobów Medycznych
POLITECHNIKA ŚLĄSKA
Wydział Inżynierii Biomedycznej
ul. Roosevelta 40
41-800 Zabrze

Zabrze, 23.12.2020r.

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej lek. dent. Igora Kalamarza
pt.: „Badania właściwości miękkiego materiału do tymczasowego
podścielenia protez modyfikowanego mikrowypełniaczem o własnościach
przeciwdrobnoustrojowych”
wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Grzegorza Chładka, prof. PŚ
(promotor pomocniczy: dr n. med. Krzysztof Sokołowski)**

Recenzja rozprawy doktorskiej została opracowana na podstawie uchwały Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z dnia 12.11.2020 roku oraz zlecenia Prodziekana Wydziału Lekarskiego ds. Nauki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi prof. dr hab. Agnieszka Wierzbowska (pismo UM 12.11.2020) z uwzględnieniem kryteriów określonych w Ustawie z dn. 14.03.2003 o stopniach naukowych oraz stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65. poz. 595, z późn. zm.); Rozporządzeniu MNiSW z dn. 03.10.2014 w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzenia czynności w przewodach doktorskich, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. z 2014 r., poz. 1383) oraz komunikatach Centralnej Komisji do spraw stopni i tytułu naukowego.

Rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie zbiór informacji dotyczących zagadnień związanych z realizacją problematyki badawczej (indeks skrótów i oznaczeń, wprowadzenie, przegląd literaturowy, część doświadczalna, bibliografię (171 pozycji), streszczenie, spis rycin oraz tabel, a także podziękowania). Praca została częściowo zrealizowana w ramach współpracy pomiędzy Uniwersytetem Medycznym w Łodzi a Politechniką Śląską.

1. Wprowadzenie

Jednym z zagrożeń dla pacjentów korzystających z protez stomatologicznych są m.in. stomatopatie protetyczne, czyli zmiany błony śluzowej jamy ustnej mające charakter procesu zapalnego. Często są one powodowane przez zakażenie grzybami drożdżopodobnymi ze szczepu *Candida*. W Polsce blisko 40% pacjentów, noszących protezy płytowe ma ten problem. *Candida albicans* są bardzo trudne do usunięcia właśnie z tego typu wyrobów, ponieważ ich powierzchnia stanowi idealne środowisko do tworzenia się biofilmu. Obecnie walką z infekcjami bakteryjnymi jest farmakoterapia, ale z powodu licznych problemów związanych z podawaniem leków wciąż poszukuje się nowych rozwiązań. Choć wydatki na nowoprojektowane substancje aktywne stale rosną, to modele matematyczne stosowane w komputerowym projektowaniu leków nie są jeszcze dopracowane. Z kolei konwencjonalne ścieżki badawcze dostarczają coraz mniej nowych propozycji substancji aktywnych. Stąd też celowym wydaje się być poszukiwanie innych rozwiązań



umożliwiających zastąpienie konwencjonalnych metod walki z zakażeniami wywołanymi przez grzyby ze szczepu *Candida*.

Inżynieria materiałowa (powierzchni) wydaje się być predystynowana do badania i projektowania nowych rozwiązań materiałowych (w skali mikro i nano), które zaproponują zaawansowane systemy terapeutyczne skuteczne w ograniczeniu zakażeń spowodowanych bezpośrednim kontaktem wyrobów protetycznych z błoną śluzową jamy ustnej człowieka. Aktualnie prowadzone badania nad poprawą skuteczności w ograniczeniu rozwoju grzybów na powierzchni wyrobów medycznych mają na celu wytwarzanie materiałów zdolnych do indukowania pożądanej odpowiedzi komórkowej na poziomie molekularnym. Dlatego też kluczowym wydaje się być zaprojektowanie materiału zawierającego biologicznie aktywne stężenie jonów terapeutycznych oraz opracowanie mechanizmu ich wprowadzania. W zależności od umiejscowienia danego wyrobu medycznego (w tym przypadku protezy – jama ustna) rodzaj materiału przeznaczonego do podścieleni będzie miał również zasadnicze znaczenie. To z kolei determinować będzie technologię wytwarzania. Stąd też wymóg również związany z dobrymi właściwościami użytkowymi, które ściśle związane są ze składem chemicznym i fazowym kompozytu, zwilżalnością, topografią i chropowatością powierzchni, ale przede wszystkim odpowiednimi właściwościami mechanicznymi. To właśnie one mają bezpośredni wpływ na równomierny rozkład sił przenoszonych przez protezę na podłoże protetyczne, co zapobiegnie lokalnym przeciążeniom tkanek. Należy pamiętać, że zmiany zachodzące w procesie przebudowy tkanki kostnej dostosowują ją do przenoszonych obciążeń, zgodnie z zasadą maksymalnej wytrzymałości przy minimalnej masie. Zwiększenie obciążeń powoduje tworzenie tkanki kostnej, w wyniku stymulacji komórek kościotwórczych – osteoblastów. Nowopowstała tkanka kostna przywraca fizjologiczny poziom naprężeń w kości i przerywa proces kościotworzenia. Zmniejszenie przenoszonych obciążeń, w wyniku większej aktywności osteoklastów (komórek kościogubnych) prowadzi do inicjacji procesu resorpcji tkanki. Pomiędzy odkształceniem kości a pobudzeniem jej komórek istnieje mechanizm sprzęgający. Obecnie przyjmuje się hipotezę, że mechanizm ten w odkształconej kości polega na przepływie cieczy w porach. Powoduje to powstanie różnicy potencjału elektrycznego (elektromechanicznego) w kościach. Jest ona wynikiem zjawiska elektrokinetycznego (potencjał przepływu), wywołanego przepływem zjonizowanej cieczy przez kapilarny system przestrzeni kostnych o ujemnie naładowanych ściankach. Stąd też, biorąc pod uwagę bieżące tendencje wytwarzania materiałów funkcjonalnych dedykowanych konkretnemu zastosowaniu – w tym przypadku – podścieleni protez, problematykę recenzowanej pracy uważam za aktualną i uzasadnioną oraz prawidłowo ukierunkowaną, zarówno w aspekcie poznawczym, jak i użytkowym. Doktorant w swojej pracy porusza tematykę wpływu z jednej strony fosforanu srebrowo-sodowo-wodorowo-cyrkonowy jako wypełniacza na zwiększoną aktywność kompozytu przeciwko rozwojowi grzybów drożdżopodobnych *Candida albicans*, zaś z drugiej na wybrane jego właściwości użytkowe. Zagadnienia podjęte w rozprawie wymagały przeprowadzenia badań interdyscyplinarnych,

m.in. z zakresu inżynierii materiałowej, inżynierii powierzchni czy oceny mikrobiologicznej proponowanych rozwiązań. Świadczy to o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktoranta do podjęcia problematyki badawczej.

2. Ocena części literaturowej rozprawy

Część literaturowa podzielona jest na pięć podrozdziałów. W pierwszym (2.1) zatytułowanym: „Wskazania do zastosowania miękkich materiałów podścielających” przedstawiono podstawowe informacje na temat miękkich materiałów podścielających, a także te dotyczące zaleceń ich stosowania. Zwrócono również uwagę na wykorzystanie tego typu materiałów do stabilizacji protez z wykorzystaniem ograniczonej liczby implantów, w przypadku rozpoznania u pacjentów sklerodermy oraz w leczeniu stomatopatii protetycznych. W drugim podrozdziale (2.2) Doktorant w sposób czytelny charakteryzuje i wykazuje różnice jakie występują pomiędzy aktualnie dostępnymi i stosowanymi miękkimi materiałami podścielającymi, wskazując zarazem tendencje rozwojowe w tym obszarze. Z kolei w podrozdziale 2.3 opisuje kliniczne aspekty stosowania miękkich podścielaczy. Treść tej części pracy ukierunkowana jest głównie na badania kliniczne realizowane przez różne ośrodki w latach 1994 – 2016. W dalszej części rozprawy (podrozdział 2.4) Doktorant zwraca szczególną uwagę na wybrane właściwości fizykochemiczne mające decydujący wpływ na finalny efekt stosowania materiałów jako podścielaczy protez. Przede wszystkim twardość, a dokładnie zmiana jej wartości w trakcie funkcjonowania w jamie ustnej człowieka. Opisuje również szereg zjawisk związanych z utratą właściwości użytkowych poprzez wzrost modułu sprężystości, pęcznienia materiałów na podścielaczach oraz tworzenie szczelin i naprężeń wewnętrznych na granicy faz podścielacz - materiał na płytę protezy. Zwraca również uwagę na problematykę samego połączenia obu materiałów oraz opisuje doświadczenia innych autorów prac, jakie uzyskali podczas prób rozciągania, ścinania czy też odrywania. W ostatnim podrozdziale 2.5 podejmowana jest problematyka kolonizacji materiałów protetycznych przez mikroorganizmy. Przedstawione w tej części pracy wyniki badań innych autorów sugerują, że proces kolonizacji materiałów podścielających jest nadal aktualny, dotyczy wszystkich ich typów i jest trudny do zatrzymania, a miękkie podścielacz z czasem może wręcz stać się rezerwuarem mikroorganizmów.

Część literaturową rozprawy oceniam pozytywnie. Stanowi ona wystarczającą podstawę teoretyczną do opracowania podjętego tematu pracy. Jednocześnie uważam, że proporcje pomiędzy szeroko rozumianymi zagadnieniami związanymi z inżynierią materiałową oraz medycznym aspektem realizowanej pracy są zachowane. Należy pamiętać, że dziś analizowana problematyka badawcza wymaga bardzo często zaprzęgnięcia doświadczeń powstałych podczas badań z różnych dziedzin czy dyscyplin naukowych ze względu na jej multidyscyplinarny charakter.



3. Ocena części merytorycznej rozprawy

Dla udowodnienia przyjętej tezy Doktorant zaproponował spójny merytorycznie program badawczy. W toku przeprowadzonych badań zastosowano komercyjnie dostępny materiał polimerowy Vertex Soft (VS) (Vertex Dental, Holandia) przeznaczony do wykonywania tymczasowych miękkich podścielań (jako referencyjny oraz poddany modyfikacji poprzez wprowadzenie wypełniacza o własnościach przeciwdrobnoustrojowych – fosforanu srebrowo-sodowo-wodorowo-cyrkonowego).

Opracowanie tej części pracy obejmującej badania własne oceniam jako dojrzałe, a wysunięte wnioski za poprawne i udokumentowane wynikami badań. Do najważniejszych osiągnięć Autora rozprawy w głównej mierze zaliczam:

- opracowanie koncepcji modyfikowania materiału polimerowego poprzez zastosowanie wypełniacza o zróżnicowanym udziale masowym w postaci fosforanu srebrowo-sodowo-wodorowo-cyrkonowego dla zwiększenia jego aktywności przeciw grzybom drożdżopodobnym (*Candida albicans*)
- opracowanie programu i przeprowadzenie interdyscyplinarnych badań umożliwiających określenie korelacji pomiędzy zaproponowanymi rodzajami kompozytów do podścielania tymczasowego protez o zróżnicowanym udziale masowym wypełniacza a morfologią, właściwościami fizycznymi (w tym mechanicznymi) wpływającymi bezpośrednio również na proces (kinetykę) formowania się warstwy powierzchniowej wyrobu finalnego i jej funkcjonalność,
- określenie wpływu czasu ekspozycji (1 dzień, 7 dni oraz 30 dni) na ewentualną kinetykę degradacji zaproponowanego rodzaju tworzywa kompozytowego poprzez badania właściwości mechanicznych, w tym pomiarów twardości, a także poddając ich powierzchnię oddziaływaniu zawiesziny wzorcowego szczepu *Candida albicans* w wodzie tryptonowej, a następnie po wysiewie i inkubacji na liczbę wyhodowanych kolonii komórkowych.

a przede wszystkim...

- określenie korelacji wybranych właściwości fizykochemicznych i mikrobiologicznych, mających wpływ na cechy użytkowe kompozytów K1 - K6.
- opracowanie metody wprowadzania do miękkich materiałów podścielających wypełniacza o zróżnicowanym udziale masowym w postaci fosforanu srebrowo-sodowo-wodorowo-cyrkonowego otrzymując tym samym kompozytowe systemy o potencjalnych właściwościach przeciw *Candida albicans*, co może spowodować zwiększenie ich potencjału aplikacyjnego szczególnie w protetyce stomatologicznej.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską nasuwają się jednak pewne pytania, mianowicie:

- w rozprawie Doktorant bardzo jasno uzasadnił podjęcie celu, który starał się osiągnąć na podstawie realizowanych badań. W tym miejscu mam pewne zastrzeżenia dotyczące definicji celu. Cel, wg wytycznych [DIN 69905] jest to weryfikowalny efekt i/lub żądanie zrealizowania całego zakresu zadań w projekcie. Aby umożliwić dokonanie skutecznej weryfikacji powodzenia pracy lub projektu, musi on być kwantyfikowalny, tj. mierzalny, ponieważ cele są pomocne jedynie wtedy, gdy można je przekształcić w zdefiniowane cele ilościowe. Oczywiście jest, że poprawnie zdefiniowane muszą one być także osiągalne. Zgodnie z przyjętymi założeniami należy jasno zdefiniować cel główny, który jest osiągalny poprzez cele produktowe. Zdefiniowanie celu jako „Zbadanie...” nie uważam za prawidłowe. Celem nie powinno być badanie, a już wymierne osiągnięcie wynikające z przeprowadzenia badań. Zgodnie z wytycznymi International Project Management Association klasyfikacja celu powinna być przeprowadzona poprzez wyznaczenie celu głównego, tego, który stanowi całość pojedynczych celów związanych z efektem dorobku naukowego i przebiegiem zadań, definiowanych jako produktowe. W tym rozdziale zabrakło zastosowania prawidłowej nomenklatury Rozdziały 5 i 7 (brakuje rozdziału 6 – rozumiem że jest to przeoczenie edycyjne) dotyczą omówienia wyników i odpowiednio przedstawienia wniosków. Informacje zawarte w tych rozdziałach jednoznacznie wskazują na konsekwentne dążenie do wyznaczonego celu,
- teza czy hipoteza? – str. 34. Hipoteza to twierdzenie, które w wyniku weryfikacji wymaga udowodnienia lub falsyfikacji. Teza jest zdaniem bądź twierdzeniem, które zawsze jest prawdziwe. Teza może być wynikiem hipotezy, która została udowodniona jako prawdziwa i nie wymaga przeprowadzenia dowodu. Stąd moje pytanie czy w pracy została postawiona teza czy hipoteza?
- własność czy właściwość – w pracy słowa te są stosowane zamiennie – np. str. 22,
- przekrój poprzeczny a przełom – który otrzymujemy łamiąc próbkę? – str. 40,
- opis dla Ryciny 6 wydają się być zbyt obszerny – str. 26,
- w podrozdziale 4.2. Doktorant wskazuje inną temperaturę suszenia niż wymieniona w podrozdziale 4.1.,
- dlaczego próbki poddawane były kondycjonowaniu w wodzie destylowanej lub kąpieli wodnej, a nie ekspozycji w sztucznej ślinie zgodnie z PN-EN ISO 10993-15: Biologiczna ocena wyrobów medycznych – dot. badań wytrzymałościowych oraz pomiarów twardości,
- szkoda, że Doktorant nie wprowadził parametrów chropowatości powierzchni, byłoby to wygodniejsze w określeniu jakości przygotowania powierzchni próbek (powtarzalności) oraz jej wpływu lub nie na pomiary kąta zwilżania,

- jeśli chodzi o metodykę badań kąta zwilżania to jej opis uważam, za niewystarczający (duża różnica w szczegółowości opisu prowadzenia badań jak i w sposobie przygotowania próbek) szczególnie w przypadku tych po ekspozycji – wilgotność podczas pomiaru ma duże znaczenie,
- czy dla pełniejszej oceny właściwości warstwy powierzchniowej kompozytu na podstawie wyznaczonych przez ciecz pomiarową (wodę destylowaną – dlaczego nie diiodometan) kątów zwilżania nie byłoby korzystne również określenie swobodnej energii powierzchniowej. Swobodna energia powierzchniowa jest parametrem bardziej precyzyjnym niż zwilżalność, ponieważ daje możliwość odpowiedzi na pytanie dotyczące względnej wielkości składowych: polarnej i niepolarniej (dyspersyjnej). Towarzyszy ona procesowi tworzenia nowej powierzchni, jest równa pracy, jaka potrzebna jest do utworzenia jednostkowej powierzchni podczas rozdziału dwóch znajdujących się w równowadze faz: miękki materiał podścielający i płyta – tym bardziej, że Doktorant wskazuje na fakt że, tu cyt. „...cząstki ceramiczne mogą efektywnie wzmocnić matrycę elastomerów, ...wykazując tym samym silną tendencję do łączenia się w agregacje” – str. 96,
- jeżeli kluczową cechą determinującą funkcjonowanie miękkich materiałów podścielających jest wytrzymałość ich połączenia z materiałami akrylowymi przeznaczonymi do wykonywania protez. – str. 96 to dlaczego nie pokuszono się o badania przyczepności powłok (materiału podścielającego) do podłoża (materiału akrylowego),
- czy pomiary twardości realizowane były w różnych kierunkach (materiał kompozytowy)?
- jaki rodzaj sterylizacji medycznej został zastosowany dla proponowanych materiałów kompozytowych – str. 41,
- pewne wątpliwości budzi również zakres zrealizowanych badań właściwości mechanicznych. Z uwagi na planowane przeznaczenie badanych kompozytów, celowym byłoby przeprowadzenie m.in. próby ściskania, co znajduje potwierdzenie w praktyce. Przeprowadzona statyczna próba rozciągania utrudnia nieco przyporządkowanie uzyskanych wyników do tych otrzymanych przez innych badaczy przedstawionych w części literaturowej rozprawy,
- czy przeprowadzona charakterystyka rynku docelowego i wykazanie zapotrzebowania na tego typu produkt była inspiracją dla Doktoranta?
- jak Doktorant ocenia będący przedmiotem pracy doktorskiej problem, jego konkurencyjności w stosunku do innych podobnych produktów/technologii dostępnych na rynku?
- czy Autor zamierza wdrożyć efekty badań otrzymanych w trakcie realizacji pracy doktorskiej (wykorzystać opracowane rozwiązania).