

AUTOREFERAT

przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych,
w szczególności określonych w art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca
2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach
i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 r. poz. 1789)

Dr inż. Dorota Bociąga

Wydział Mechaniczny
Politechnika Łódzka

Łódź, marzec 2019

Spis treści

| | |
|--|-----------|
| 1. Dane osobowe | 2 |
| 2. Wykształcenie, posiadane dyplomy i stopnie naukowe | 2 |
| 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu | 3 |
| 4. Wskazanie i tytuł osiągnięcia naukowego | 4 |
| 4.1. Wykaz publikacji stanowiących podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego | 4 |
| 4.2. Omówienie celu naukowego | 9 |
| 4.2.1. Wprowadzenie | 9 |
| 4.2.2. Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora | 10 |
| 4.2.3. Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora | 11 |
| 4.2.4. Uzasadnienie celowości podjętej tematyki badawczej | 12 |
| 4.2.5. Cel naukowy badań stanowiących wnioskowane osiągnięcie habilitacyjne | 17 |
| 4.3. Omówienie osiągniętych wyników | 18 |
| 4.3.1. Wyniki w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem..... | 19 |
| 4.3.2. Wyniki w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi krzemem | 23 |
| 4.3.3. Wyniki w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i krzemem | 30 |
| 4.4. Wnioski w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez modyfikowane powierzchnie biomateriałów metalicznych | 34 |
| 4.4.1. Najistotniejsze wnioski w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powłoki węglowe domieszkowane srebrem | 34 |
| 4.4.2. Najistotniejsze wnioski w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powłoki węglowe domieszkowane krzemem | 35 |
| 4.5. Podsumowanie w zakresie zmian odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez biomateriały metaliczne w wyniku modyfikacji ich powierzchni powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i/lub krzemem | 36 |
| 4.6. Wskazanie osiągnięcia naukowego mającego znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna | 39 |
| 4.7. Perspektywy dalszego rozwoju | 42 |
| 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych, dydaktycznych i organizacyjnych... | 43 |

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: **Dorota Bociąga**

Miejsce pracy: Zakład Inżynierii Biomedycznej i Materiałów Funkcjonalnych
Instytut Inżynierii Materiałowej
Wydział Mechaniczny Politechniki Łódzkiej
ul. Stefanowskiego 1/15, 90-924 Łódź
tel.: +48 42 631 30 66, e-mail: dorota.bociaga@p.lodz.pl

Stanowisko: Adiunkt

ORCID: 0000-0001-6230-4219

2. Wykształcenie, posiadane dyplomy i stopnie naukowe

Fundacja 11Muz – Innowacje w Kulturze **03.2013 – 10.2014**

Dyplom ukończonego kursu trenerskiego I i II stopnia - uzyskany stopień trenerski na 5 poziomie Europejskich Ram Kwalifikacji zgodnych z zaleceniem Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 kwietnia 2008 r. w sprawie ustanowienia europejskich ram kwalifikacji dla uczenia się przez całe życie (Certyfikat nr CKTII/01/02/2014).

**Polska Fundacja Ośrodków Wspomagania Rozwoju
Gospodarczego „OIC Poland” w Lublinie oraz Wyższa
Szkoła Ekonomii i Innowacji w Lublinie** **03.2012 – 02.2013**

Dyplom ukończonych studiów podyplomowych na kierunku: Menedżer Badań Naukowych i Prac Rozwojowych.

**University of Texas at Austin (USA)
Uniwersytet Łódzki** **10.2008 – 01.2010**

Ukończone polsko-amerykańskie studia podyplomowe Komercjalizacji innowacyjnych przedsięwzięć i nowych technologii, Master of Science in Science and Technology Commercialization – MSSTC. Uzyskane świadectwo Wydziału Zarządzania Uniwersytetu Łódzkiego oraz dyplom uczelni University of Texas at Austin.

Centrum Kształcenia Pedagogicznego PŁ **10.2006 – 09.2007**

Kurs doskonalenia pedagogicznego dla asystentów Politechniki Łódzkiej zakończony uzyskaniem dyplomu kwalifikacji pedagogicznych.

**Politechnika Łódzka, Wydział Mechaniczny
specjalność: Aparatura i Sprzęt Medyczny** **10.2003 – 06.2007**

Studia doktoranckie ukończone uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk technicznych (12.2007); dyscyplina naukowa: inżynieria materiałowa, specjalność: inżynieria powierzchni. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Powłoki węglowe na jubilerskie tworzywa metaliczne”.

Politechnika Łódzka, Wydział Mechaniczny / 'Ecole Catholique d'Arts et Métiers – ECAM, Lyon (Francja) **10.1998 – 07.2003**

kierunek: Inżynieria Materiałowa

Studia dzienne magisterskie ukończone uzyskaniem tytułu zawodowego magistra inżyniera z wynikiem: celujący z wyróżnieniem. Miejsce obrony: 'Ecole Catholique d'Arts et Métiers – ECAM, Lyon, Francja. Obrona w języku angielskim.

Tytuł pracy magisterskiej: „NCD layer as an anti-allergic barrier on the nickel alloys”,
dyscyplina naukowa: inżynieria materiałowa.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu

Adiunkt **03.2009 – obecnie**

Zakład Inżynierii Biomedycznej i Materiałów Funkcjonalnych
w Instytucie Inżynierii Materiałowej Politechniki Łódzkiej

Dyrektor ds. badań naukowych i wdrożeń **11.2016 – 03.2018**

Grupa Passio: Passio Biomaterials Sp. z o.o.,
Passio Human Microbiome Sp. z o.o., Passio Sp. z o.o.

Pełnomocnik Dziekana ds. projektów strukturalnych Unii Europejskiej **03.2009 – 12.2012**

Wydział Mechaniczny Politechniki Łódzkiej

Specjalista **01.2008 – 02.2009**

Wydział Mechaniczny Politechniki Łódzkiej

Konsultant Punktu Kontaktowego ds. Programów Ramowych Unii Europejskiej **01.2004 – 09.2004**

Fundacja Rozwoju Przedsiębiorczości w Łodzi

4. Wskazanie i tytuł osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 r. poz. 1789) wskazuję cykl jedenastu powiązanych tematycznie publikacji i dwóch patentów pod wspólnym tytułem:

„Zmiana odpowiedzi biologicznej wywoływanej przez biomateriały metaliczne w wyniku modyfikacji ich powierzchni powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i krzemem”.

4.1. Wykaz publikacji stanowiących podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego

IF_{rocznik} – (ang. Impact Factor) – liczba punktów IF według listy Journal Citation Reports – zgodnie z rokiem opublikowania [na podstawie strony <https://jcr.incites.thomsonreuters.com>].

IF_{5-letni} – (ang. Impact Factor 5-letni aktualny) – liczba punktów IF według listy Journal Citation Reports – aktualne dane [na podstawie strony <https://jcr.incites.thomsonreuters.com>] (za 2017 rok zgodnie z aktualnymi danymi dostępnymi na dzień 22.03.2019 r.).

Pkt MNiSW – liczba punktów według Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego zgodnie z rokiem opublikowania na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego adekwatnego dla danego rocznika publikacji. Dla artykułów z roku 2017 i 2018 pkt MNiSW podano zgodnie z danymi za 2016 r. na podstawie ujednoliconego wykazu czasopism naukowych opublikowanego przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego zgodnie z Komunikatem z dnia 25 stycznia 2017 r.

CI (ang. Citation Index) – liczba cytowań publikacji wg Web of Science [na podstawie strony <https://jcr.incites.thomsonreuters.com>] (dane z dnia 22.03.2019 r.).

Publikacje w bazie JCR wchodzące w skład cyklu:

A1. Dorota Bociaga, 2010. Nanostructured Protective Carbon Layer on the Jeweller’s Metallic Material – *in vitro* verification, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 10(2), 1191-1195.

IF₂₀₁₀ = **1.352** IF_{5-letni 2017} = **1.103** Pkt MNiSW = **32** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.06.2010] CI = **3**

A2. Dorota Bociaga, Piotr Komorowski, Damian Batory, Witold Szymanski, Anna Olejnik, Krzysztof Jastrzebski, Witold Jakubowski, 2015. Silver-doped nanocomposite carbon coatings (Ag-DLC) for biomedical applications – physiochemical and biological evaluation, Applied Surface Science, 355, 388-397.

IF₂₀₁₅ = **3.15** IF_{5-letni 2017} = **3.743** Pkt MNiSW = **35** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 23.12.2015] CI = **22**

A3. Dorota Bociąga, Marta Kamińska, Anna Sobczyk-Guzenda, Krzysztof Jastrzębski, Lidia Świątek, Anna Olejnik, 2016. Surface properties and biological behaviour of Si-DLC coatings fabricated by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method for medical applications, *Diamond & Related Materials*, 67, 41-50.

IF₂₀₁₆ = **2.561** IF_{5-letni 2017} = **2.209** Pkt MNiSW = **30** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.01.2017] CI = **11**

A4. Dorota Bociąga, Witold Jakubowski, Piotr Komorowski, Anna Sobczyk-Guzenda, Anna Jędrzejczak, Damian Batory, Anna Olejnik, 2016. Surface characterization and biological evaluation of silver-incorporated DLC coatings fabricated by hybrid RF PACVD/MS method, *Materials Science & Engineering: C - Materials for Biological Applications*, 63, 462-474.

IF₂₀₁₆ = **4.164** IF_{5-letni 2017} = **4.628** Pkt MNiSW = **30** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.01.2017] CI = **15**

A5. Lidia Swiatek, Anna Olejnik, Jacek Grabarczyk, Anna Jędrzejczak, Anna Sobczyk-Guzenda, Marta Kaminska, Witold Jakubowski, Witold Szymanski, **Dorota Bociąga**, 2016. Multi-doped diamond like-carbon coatings (DLC-Si/Ag) for biomedical applications fabricated using the modified chemical vapour deposition method, *Diamond & Related Materials*, 67, 54-62.

IF₂₀₁₆ = **2.561** IF_{5-letni 2017} = **2.209** Pkt MNiSW = **30** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.01.2017] CI = **9**

A6. Ion N Mihailescu, **Dorota Bociąga**, Gabriel Socol, George E Stan, Mariana-Carmen Chifiriuc, Coralia Bleotu, Marius A Husanu, Gianina Popescu-Pelin, Liviu Duta, Catalin R Luculescu, Irina Negut, Claudiu Hapenciuc, Cristina Besleaga, Irina Zgura, Florin Miculescu, 2016. Fabrication of antimicrobial Silver-doped Carbon structures by combinatorial pulsed laser deposition, *International Journal of Pharmaceutics*, 515, 592–606.

IF₂₀₁₆ = **3.649** IF_{5-letni 2017} = **4.229** Pkt MNiSW = **40** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.01.2017] CI = **10**

A7. Dorota Bociąga, Anna Sobczyk-Guzenda, Witold Szymanski, Anna Jędrzejczak, Aleksandra Jastrzebska, Anna Olejnik, Krzysztof Jastrzebski, 2017. Mechanical properties, chemical analysis and evaluation of antimicrobial response of Si-DLC coatings fabricated on AISI 316 LVM substrate by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method for potential biomedical applications, *Applied Surface Science*, 417, 23–33.

IF₂₀₁₇ = **4.439** IF_{5-letni 2017} = **3.743** Pkt MNiSW = **35** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.01.2017] CI = **9**

A8. Mihailescu, Ion; **Bociaga, Dorota**; Popescu-Pelin, Gianina; Stan, George; Duta, Liviu; Socol, Gabriel; Chifiriuc, Carmen; Bleotu, Coralia; Lazar, Veronica; Husanu, Marius; Zgura, Irina; Miculescu, Florin; Negut, Irina; Hapenciu, Claudiu, 2017. Optimized silicon reinforcement of carbon coatings by pulsed laser technique for superior functional biomedical surfaces fabrication, *Biofabrication*, 9, 025029.

IF₂₀₁₇ = **6.838** IF_{5-letni 2017} = **6.896** Pkt MNiSW = **45** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.01.2017] CI = **2**

A9. **Dorota Bociaga**, Anna Sobczyk-Guzenda, Witold Szymanski, Anna Jedrzejczak, Aleksandra Jastrzebska, Anna Olejnik, Lidia Swiatek, Krzysztof Jastrzebski, 2017. Diamond like carbon coatings doped by Si fabricated by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method - Mechanical properties, chemical analysis and biological evaluation, *Vacuum*, 143, 395-406.

IF₂₀₁₇ = **2.067** IF_{5-letni 2017} = **1.867** Pkt MNiSW = **25** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.01.2017] CI = **2**

A10. Duta, L.; Ristoscu, C.; Stan, G. E.; Husanu, M. A.; Besleaga, C.; Chifiriuc, M. C.; Lazar, V.; Bleotu, C.; Miculescu, F.; Mihailescu, N.; Axente, E.; Badiceanu, M.; **Bociaga, D.**; Mihailescu, Ion N., 2018. New bio-active, antimicrobial and adherent coatings of nanostructured Carbon double-reinforced with Silver and Silicon by Matrix-Assisted Pulsed Laser Evaporation for medical applications, *Applied Surface Science*, 441, 871–883.

IF₂₀₁₈ = **4.439** IF_{5-letni 2017} = **3.743** Pkt MNiSW = **35** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 25.01.2017] CI = **1**

Publikacje spoza bazy JCR wchodzące w skład cyklu:

A11. Krzysztof Koryszewski, **Dorota Bociaga**, Rafał Skowroński, 2015. Results of peritrochanteric fracture treatment with carbon (DLC) and silicon-carbon (Si-DLC) coated Gamma nail – preliminary report (Wyniki leczenia złamań okołokrętarzowych leczonych gwoździem Gamma pokrytych warstwą węglową DLC i węglowo-krzemową Si-DLC – doniesienie wstępne, *Chirurgia Narządów Ruchu i Ortopedia Polska*, 80 (4), 171-175.

Pkt MNiSW = **5** [na podstawie załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 23.12.2015]

Patenty wchodzące w skład cyklu:

A12. P. Niedzielski, H. Szymanowski, D. Batory, **D. Bociaga**, U. Borowska, M. Cłapa, J. Grabarczyk, W. Kaczorowski, A. Sobczyk-Guzenda, numer prawa wyłącznego: PAT.223008 udzielony na podstawie zgłoszenia nr P.398452 z dn. 15.03.2012 pt. „Sposób wytwarzania warstwy węglowej zawierającej krzem na implantach medycznych” (ang. Method for producing the silicon-containing carbon layer on medical implants), Polska, Urząd Patentowy RP.

oraz

P. Niedzielski, H. Szymanowski, D. Batory, **D. Bociąga**, M. Cłapa, J. Grabarczyk, W. Kaczorowski, A. Sobczyk-Guzenda, zgłoszenie patentowe nr 10 2012 215 855.3 z dn. 19.09.2012 pt. „Verfahren zur Herstellung einer silliziumhaltigen Kohlenstoffschicht auf medizinischen Implantaten”, Niemcy, DPMA Deutsches Patent.

Pkt MNiSW: **70** [punkty za patent międzynarodowy patent (40) i jego wdrożenie (30) przyznane jednostce na podstawie rozporządzenia MNiSW z dn. 12 grudnia 2016 r. w sprawie kryteriów i trybu przyznawania kategorii naukowej jednostkom naukowym]

A13. D. Batory, **D. Bociąga**, M. Cłapa, M. Czerniak-Reczulska, J. Grabarczyk, W. Jakubowski, W. Kaczorowski, Ł. Kołodziejczyk, P. Komorowski, P. Niedzielski, W. Szymański, numer prawa wyłącznego: PAT.225955 udzielony na podstawie zgłoszenia nr P.401955 z dn. 10.12.2012 pt. „Sposób wytwarzania nanokompozytowej warstwy węglowej domieszkowanej srebrem na powierzchniach metalicznych” (ang. Method for preparing a nanocomposite silver-doped carbon layer on the metal surfaces), Polska, Urząd Patentowy RP.

Pkt. MNiSW: **30** [na podstawie rozporządzenia MNiSW z dn. 12 grudnia 2016 r. w sprawie kryteriów i trybu przyznawania kategorii naukowej jednostkom naukowym]

Sumarycznie dla prac stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego:

IF JCR = **35.22** (zgodny z rokiem opublikowania)

5-letni IF JCR = **34.37** (aktualny)*

pkt MNiSW = **442** (zgodne z rokiem opublikowania, w tym **100 za patenty**)

Liczba cytowań publikacji **:

według bazy Web of Science: **113** (bez autocytowań 96)

według bazy Scopus: **118**

Indeks Hirscha**:

według bazy Web of Science: **8**

według bazy Scopus: **8**

* za 2017 rok zgodnie z aktualnymi danymi dostępnymi na dzień 22.03.2019 r.

** dane z dnia 22.03.2019 r.

Opisany wkład własny w powstanie wyżej wymienionych prac wraz z moim udziałem wyrażonym w procentach został umieszczony w **załączniku nr 6** pt. „Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki”. Oświadczenia poszczególnych współautorów publikacji znajdują się w **załączniku nr 5** pt. „Oświadczenia współautorów publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe”.

Badania zawarte w powyższych pracach zostały sfinansowane m.in. ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektów:

ERA-NET/MNT/CARSILA/1/2010 pt.: „Warstwy węgiel-srebro” - ang.: “CARbon SILver LAyer”, akronim CARSILA, Program M-ERA.NET Materials Science and Engineering – European Research Area Network (**kierownik projektu: dr inż. Dorota Bociąga**) [**A2, A4**];

M-ERA.NET/2012/02/2014 pt.: „Powłoki węglowe domieszkowane Ag/Si do zastosowań biomedycznych” – ang.: “Ag/Si doped CARbon LAyer for bio-medical application”, akronim CARLA, Program M-ERA.NET Materials Science and Engineering – European Research Area Network (**kierownik projektu: dr inż. Dorota Bociąga**) [**A5, A6, A8, A10**];

LIDER/040/707/L-4/12/NCBR/2013 pt.: "MODified BIOMaterials – MEDicine future", akronim MOBIOMED, Program LIDER (**kierownik projektu: dr inż. Dorota Bociąga**) [**A3, A7, A9**];

INNOTECH-K1/IN1/18/156542/NCBR/12 pt. „Nowe biokompatybilne warstwy Si-DLC na implanty kostne”, akronim SiMED, Program INNOTECH (ścieżka programowa In-TECH) (**kierownik projektu: prof. dr hab. inż. Piotr Niedzielski; koordynator badań biologicznych: dr inż. Dorota Bociąga**) [**A11**].

4.2. Omówienie celu naukowego

4.2.1. Wprowadzenie

Biomateriały cechują się wymaganą biotolerancją (biokompatybilnością), czyli zgodnością biologiczną i harmonią interakcji z żywą materią. Biomateriały o wymaganej biotolerancji po wprowadzeniu do organizmu nie wywołują ostrych lub chronicznych reakcji ani stanu zapalnego otaczających je tkanek. Jedną z grup materiałów spełniających te wymagania stanowią biomateriały metaliczne. To właśnie z nich produkuje się obecnie najwięcej implantów, a przez kolejne trzy lata ta ilość ma zdecydowanie wzrosnąć i według przewidywań trzykrotnie przewyższy udział ceramiki i ponad pięciokrotnie polimerów [1]. Największy udział w całkowitym światowym rynku implantów mają implanty ortopedyczne. Zgodnie z najnowszymi doniesieniami do roku 2022 ich liczba zwiększy się trzykrotnie, głównie z powodu rosnącej otyłości i wzrostu liczby złamań związanych z osteoporozą wśród wszystkich grup wiekowych. Co więcej, przedział wiekowy pacjentów decydujących się na zabiegi ortopedyczne z implantami zwiększył się z grupy poniżej 55 lat do ponad 80 lat. Około 60% światowego rynku implantów ortopedycznych stanowią biomateriały metaliczne [wg *Bizwit Research & Consulting LLP*]. Te najczęściej wykorzystywane do produkcji wyrobów medycznych to stopy tytanu, stal austenityczna (popularnie nazywana stalą medyczną) oraz stopy na osnowie kobaltu [2-4]. Charakteryzują się one wysokimi parametrami wytrzymałości mechanicznej, odporności na korozję i dobrze opanowanymi technikami wytwarzania. Liczne jednostki badawcze na całym świecie czynią jednak starania, aby udoskonalić materiały metaliczne do zastosowań medycznych. Bo choć pozwalają one ratować ludzkie życie i/lub przywracać sprawność, nawet odporne na korozję biomateriały nie wykazują pełnej stabilności w środowisku, jakim jest organizm ludzki. Szkodliwe produkty ich degradacji, w tym jony metali, mogą wywoływać procesy zapalne i być akumulowane w tkankach i narządach [5] lub wywoływać niepożądane reakcje organizmu natury alergicznej [6]. Dodatkowo, najczęstszym wskazaniem do rewizji lub usunięcia wszczepu, są powikłania o charakterze infekcji postimplantacyjnej [7-10]. Z tego powodu od wielu lat dużo uwagi poświęca się modyfikacjom powierzchni biomateriałów metalicznych, które mają na celu poprawę ich właściwości, m.in. w kontekście wywoływanych reakcji biologicznych [11]. Jednym z najczęściej proponowanych rozwiązań jest diamentopodobna powłoka węglowa (DLC, z ang. *diamond-like carbon*) nałożona na powierzchnię implantu [12, 13]. W wyniku wieloletnich badań prowadzonych przez liczne jednostki naukowe na całym świecie, dla powłok tych udało się osiągnąć bardzo dobre wyniki w zakresie ich wytrzymałości na zużycie [14], bardzo korzystnych właściwości fizykochemicznych powierzchni [15], odporności na korozję [16, 17] oraz wysokiej bio- i hemokompatybilności [18-23]. Dzięki temu stanowią bezpieczną i skuteczną barierę ochronną na implancie, a tym samym niwelują ryzyko jego odrzucenia na skutek występowania reakcji alergicznych lub biokorozji [24].

Powłoki nakładane na implanty medyczne mogą spełniać również dodatkowe funkcje w kontekście docelowo wywoływanych reakcji biologicznych. Taki efekt może zostać

osiągnięty poprzez wprowadzenie konkretnego pierwiastka do matrycy powłoki węglowej. Pierwiastki, które są analizowane w badaniach, można podzielić na: pozwalające uzyskać właściwości antybakteryjne (np. Ag, Cu, Si), obniżające trombogenność (np. Si, Ca, P) oraz stymulujące proliferację komórek (np. Si, Ti, Ca, P), w tym przyspieszające proces osteointegracji (np. Ti, Si).

Z tego powodu cienkie powłoki węglowe stanowią obiekt zainteresowania wielu naukowców na całym świecie, a metody ich wytwarzania są nieustannie modyfikowane i rozwijane, jako swego rodzaju odmiany lub połączenie metod fizycznego (PVD, z ang. *Physical Vapor Deposition*) i chemicznego (CVD, z ang. *Chemical Vapor Deposition*) osadzania z fazy gazowej.

4.2.2. Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora

Moje zainteresowanie powłokami węglowymi rozpoczęło się w trakcie realizacji pracy magisterskiej. Badałam wówczas skuteczność warstw nanokrystalicznego diamentu (NCD, z ang. *nanocrystalline diamond*), wytworzonych metodą osadzania z fazy gazowej wspomaganą plazmą generowaną polem elektromagnetycznym wysokiej częstotliwości (RF PACVD – z ang. *Radio Frequency Plasma Assisted Chemical Vapour Deposition*), jako pokryć chroniących ludzi przed bezpośrednim kontaktem z niklem, a tym samym przed wystąpieniem reakcji alergicznych [tytuł mojej pracy magisterskiej: „*NCD layer as an anti-allergic barrier on the nickel alloys*”]. Wytwarzane powłoki okazały się bardzo skuteczne, a dalsze badania nad nimi i ich odmianami, jako powłokami stanowiącymi barierę dla niebezpiecznych pierwiastków podłożu, z których wykonywane są wyroby medyczne, w sposób naturalny stały się tematem mojej rozprawy doktorskiej [tytuł: „*Powłoki węglowe na jubilerskie tworzywa metaliczne*”]. W ramach tej pracy skupiłam się na opracowaniu warstw DLC dających najlepsze efekty ochronne na stali austenitycznej, z której wykonywane są nie tylko implanty, ale również wysokiej jakości biżuteria (w tym szczególnie ta stosowana do zabiegów typu body piercing, gdzie elementy „dekorujące” ciało nie tylko przekuwają warstwy skórne, ale również są implantowane podskórnym i dotkankowo). Jako metodę wytwarzania cienkich powłok węglowych wybrałam technikę RF PACVD. Była to metoda stosunkowo rzadko używana, a same powłoki DLC słabo scharakteryzowane i opisane w literaturze. Poza tym zespół, w którym pracowałam, posiadał duże doświadczenie w wytwarzaniu warstw węglowych tą techniką, a ja sama podobne urządzenie obsługiwałam w 'Ecole Catholique d'Arts et Métiers – ECAM (Lyon, Francja), realizując moją pracę magisterską. Dzięki nabytej praktyce moje badania poszerzyłam o powłoki wytwarzane na stali medycznej typu AISI316L także drugą metodą – MW/RF PACVD (z ang. *Microwave/Radio Frequency Plasma Assisted Chemical Vapour Deposition*), w której plazma generowana jest nie tylko polem elektromagnetycznym wysokiej częstotliwości, ale również mikrofalowym. W międzyczasie mój warsztat badacza wzbogaciłam o techniki oceny odpowiedzi biologicznej wykorzystując wiedzę nabytą w toku studiów III stopnia, które

w znacznej ich części realizowałam na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi (poprzez indywidualny tok studiów na podstawie decyzji Rektora PŁ). W efekcie moich wcześniejszych doświadczeń oraz nabytej wiedzy i umiejętności w toku studiów doktoranckich, przeprowadziłam porównawcze badania dla powłok DLC wytworzonych na stali AISI316L metodą RF oraz MW/RF PACVD, oceniając nie tylko ich właściwości fizykochemiczne i mechaniczne, ale również odpowiedź biologiczną w modelu *in vitro* (na komórkach linii fibroblastów), *in vivo* (na szczurach rasy Wistar) oraz badaniach klinicznych w postaci płatkowych testów alergicznych. Ta kompleksowa analiza biologiczna i materiałowa pokazała, że jony metali uwalniane z biomateriału przenikają do organizmu i są akumulowane w organach odległych. Potwierdziły to badania histopatologiczne śledzion pobranych od szczurów po implantacji pręcików ze stali medycznej na 26 tygodni do tkanek miękkich w okolicy łopatek. Te same badania wskazały również na skuteczność powłok DLC jako bariery dla uczulających jonów metali typu Ni, Cr, Mo – obserwowano brak odczynów alergicznych u pacjentów a w śledzionach szczurów nie odnotowano zmian nawet po najdłuższych okresach implantacji. Wyniki te przedstawiłam w swojej dysertacji doktorskiej, którą obroniłam w roku 2007. Realizacja tak szeroko zakrojonych i kosztochłonnych badań (głównie biologicznych) możliwa była dzięki pozyskanym przeze mnie środkom finansowym w ramach dwóch projektów [II.J2. – grant badawczy w ramach projektu pt. Mechanizm Wspierania Innowacyjnej Działalności Doktorantów – WIDDOK (nr umowy: WIDDOK/SC/2006/28); II.J3. – grant promotorski pt. „Powłoki węglowe na jubilerskie tworzywa metaliczne” (nr umowy: N508 004 31/038)]. Materiał uzyskany w trakcie realizacji pracy doktorskiej został opisany w artykule z listy JCR [II.A1. D. Bociaga, K. Mitura, 2008. Biomedical effect of tissue contact with metallic material used for body piercing modified by DLC coatings, *Diamond & Related Materials*, 17, 1410 – 1415] oraz z listy B MNiSW [II.E1. D. Bociaga, 2008. Ocena stanu biżuterii metalicznej z powłoką węglową w badaniach *in vivo* (ang. Evaluation of the surface of metallic jewellery with carbon coating after *in vivo* test), *Engineering of Biomaterials* 76 (2008) 28-32]. Wartością dodaną z realizacji mojej pracy doktorskiej było doświadczenie w pisaniu wniosków o zgodę na badania składane do Komisji Bioetycznej oraz przeszkolenie z zakresu badań na zwierzętach, jakie przeszłam w zwierzętarni działającej w reżimie DPL – dobrej praktyki laboratoryjnej (z ang. GLP – *good laboratory practice*) i wykonywania oraz odczytywania wyników testów alergicznych typu „patch test”.

4.2.3. Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora

Po obronie pracy doktorskiej przeprowadziłam kolejne badania uzupełnione o nowe techniki badawcze. Ich celem było potwierdzenie skuteczności metod wytwórczych powłok na bazie węgla dających najlepsze wyniki co do biogodności i spełniania funkcji bariery dla pierwiastków pochodzących z podłoży metalicznych. W efekcie powstała samodzielna praca [A1; I.B1. D. Bociaga, 2010. Nanostructured Protective Carbon Layer on the Jeweller's Metallic Material – *in vitro* verification, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10(2), 1191-1195], która stanowiła punkt wyjścia do mojego dalszego rozwoju naukowego. Ważnym elementem tych badań było opracowanie kompleksowej ścieżki postępowania dla nowego materiału do zastosowań

medycznych poczynając od jego wytworzenia, aż po badania kliniczne. Realizacja analiz w ramach tak określonej ścieżki, której z góry założonym celem był aspekt aplikacyjny wypracowanych rezultatów, zdeterminowała moje podejście do zagadnień badawczych, które podejmowałam w dalszej pracy naukowej. Od tego momentu ważną rolę odgrywał również aspekt możliwości wdrożenia technologii, materiałów i wyników badań. Wszystkie kierowane przeze mnie po doktoracie projekty badawcze, jak i większość z tych, w których pełniłam rolę wykonawcy, miały potencjał aplikacyjny lub wdrożeniowy [II.J4, II.J6, II.J7, II.J9, II.J11, II.J12, II.J13, II.J14]. Moje projekty zawsze powstawały w efekcie zgłaszanego przez podmioty gospodarcze zapotrzebowania na dane rozwiązanie i były realizowane w ścisłej z nimi współpracy. W projektach tych dbałam o to, aby stale rozwijać zakres prowadzonych badań, jak najbardziej adekwatnie dobierać techniki analiz i prowadzić je tak kompleksowo, aby najlepiej oddawały realne warunki pracy (tj. temperatura, rodzaj medium biologicznego, z którym ma bezpośredni kontakt, para cierna, itp.) wyrobów medycznych wytwarzanych z opracowywanych materiałów lub technologii zastosowanych do ich modyfikacji.

Podsumowując, po uzyskaniu stopnia doktora obszar moich zainteresowań badawczych nadal związany był z biomateriałami i ich skutecznym i bezpiecznym stosowaniem w medycynie. O ile jednak moje wcześniejsze prace skupiały się bardziej na niwelowaniu skutków ubocznych materiałów stosowanych na wyroby będące w kontakcie z organizmem ludzkim, o tyle projekty i badania, które podejmowałam w dalszej mojej działalności naukowej, skoncentrowane były na uzyskiwaniu określonej zmiany odpowiedzi biologicznej poprzez modyfikację powierzchni biomateriałów metalicznych powłokami węglowymi domieszkowanymi różnymi pierwiastkami.

4.2.4. Uzasadnienie celowości podjętej tematyki badawczej

Analiza literatury w zakresie domieszkowania powłok węglowych wskazuje, że mogą one mieć różny wpływ na odpowiedź biologiczną, co determinuje możliwości i potencjał ich zastosowania w medycynie. Jednocześnie badania potwierdzają, że odpowiedź ta zależy nie tylko od rodzaju pierwiastka domieszki, ale w dużej mierze również od właściwości, głównie fizykochemicznych (zarówno powierzchniowych, jak i objętościowych), uzyskanych powłok. To z kolei jest efektem zastosowanej techniki wytwarzania, parametrów prowadzonych procesów, ilości wprowadzonego pierwiastka, uzyskanej jego formy, jak i samego materiału podłoża, na którym są nanoszone. Funkcjonalne materiały do zastosowań biomedycznych muszą zatem spełniać wymagania w zakresie odpowiednich właściwości fizycznych, chemicznych, mechanicznych i tribologicznych, gwarantujących niezawodność działania w całym okresie eksploatacji. Co więcej, te badania powinny poprzedzać etap testów biologicznych, ponieważ są one, w zdecydowanej większości przypadków, szybsze do wykonania i tańsze. Uzyskane w ich wyniku potwierdzenie dobrych parametrów użytkowych powłok uzasadnia podjęcie długotrwałych i kosztownych badań oceny odpowiedzi biologicznych (*in vitro*, *in vivo* i klinicznych). Należy przy tym pamiętać, że możliwość

zastosowania danego biomateriału ostatecznie determinuje odpowiedź biologiczna, jaką on wywołuje. To zagadnienie stanowi główny obszar moich zainteresowań naukowych.

W zakresie prowadzonych przeze mnie badań znalazły się dwa pierwiastki domieszki: srebro (Ag) oraz krzem (Si). Oba, zgodnie z doniesieniami literaturowymi, wykazują właściwości, które są bardzo cenne z punktu widzenia implantów ortopedycznych. Dzięki mojej wieloletniej współpracy z firmą Medgal Sp. z o.o., która jest producentem wyrobów medycznych do takich właśnie zastosowań, było dla mnie celowym, aby skupić uwagę na materiałach, które mogą przynieść korzyści w rozwoju biomateriałów do osteosyntezy.

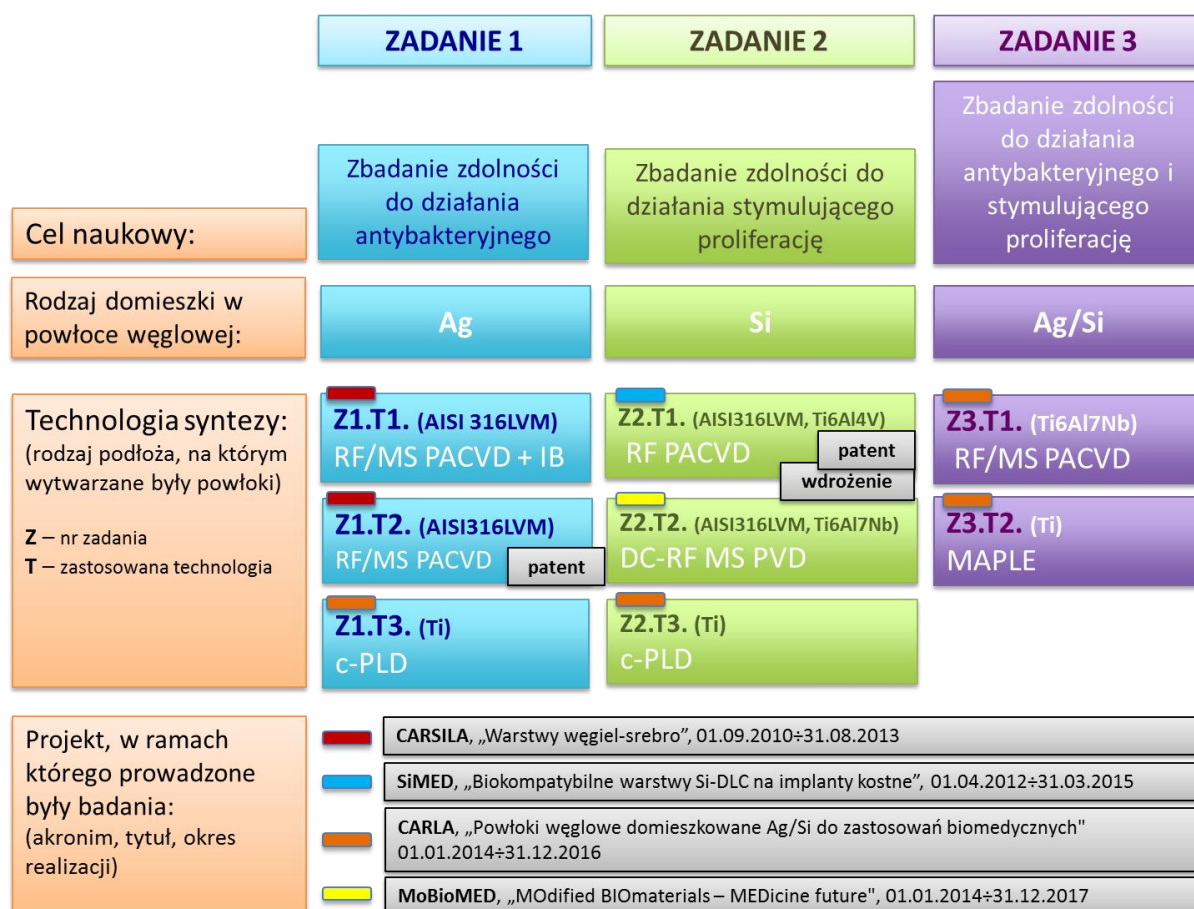
Od wielu już lat poszukiwane są możliwości wykorzystania **srebra** do zwalczania postimplantacyjnych infekcji bakteryjnych, które stanowią jedną z najczęstszych przyczyn odrzucenia wszczepów i konieczność reoperacji. Pomysł na przywrócenie srebra, od czasów antycznych postrzeganego jako materiał o aseptycznych zdolnościach, pojawił się wraz z rozwijającą się farmakologią i rosnącą w odpowiedzi na to liczbą antybiotykoopornych szczepów bakteryjnych. Wielu badaczy wykazało skuteczność antybakteryjnego działania srebra wprowadzonego do matrycy węglowej [25-28], przy jednoczesnym zachowaniu biogodności w zakresie kontaktu z komórkami eukariotycznymi, czy krwią [26, 29-30], a nawet wykazując efekt zwiększonej osteointegracji poprzez zastosowanie tego pierwiastka [31]. Pomimo licznych badań w ośrodkach na całym świecie i zaproponowanych wielu metod wytwarzania powłok domieszkowanych srebrem, wciąż pozostają do rozwiązania takie problemy, jak toksyczność powłok w stosunku do komórek ssaczy [31], trudności technologiczne związane z niskim powinowactwem chemicznym srebra do węgla, niekontrolowane tworzenie konglomeratów zmieniających parametry struktury geometrycznej, czy też obniżenie twardości skutkujące pogorszeniem właściwości użytkowych. Uwzględniając, że technika wytwarzania w znaczący sposób różnicuje otrzymywane rezultaty, wciąż niewyjaśnione pozostają mechanizmy wywołujące efekt zwalczania mikroorganizmów przez srebro znajdujące się powłokach naniesionych na powierzchnie biomateriałów. Ponieważ rośnie oporność bakterii na środki farmakologiczne, tym poważniejsze w konsekwencje stają się infekcje pojawiające się po wprowadzeniu implantu. Opracowanie skutecznej metody zwalczania tego zjawiska będzie dużą korzyścią przede wszystkim dla pacjentów. Stworzenie dobrze zaadherowanej do podłoża, szczelnej, odpornej na zużycie mechaniczne i korozję powłoki węglowej stwarza możliwość jej zastosowania z punktu widzenia właściwości użytkowych. Możliwość kontrolowania efektów biologicznych wywoływanych przez taką powłokę spełnia warunek biologicznego bezpieczeństwa użytkowania. Osiągnięcie efektu bakteriobójczości wprowadza dodatkową funkcjonalność biomateriału, która może rozwiązać problemy, z jakimi boryka się medycyna. Z tego względu w mojej pracy naukowej znaczącą część badań poświęciłam powłokom domieszkowanym srebrem w aspekcie oceny efektów ich działania w stosunku do mikroorganizmów.

Analiza literatury w zakresie biologicznego oddziaływania **krzemu** potwierdza pozytywny wpływ tego pierwiastka na poprawę hemokompatybilności (krzem powoduje, że powierzchnia działa przeciwzakrzepowo poprzez hamowanie aktywacji fibrynogenu), przyspieszenie procesów proliferacyjnych oraz działanie antybakteryjne [32-35]. De Scheerder i in. wykazali nawet, że można zmniejszyć indukcję reakcji zapalnych poprzez dodatek SiO_x do DLC [36]. Jednocześnie domieszka krzemu w powłokach węglowych znacząco poprawia właściwości chemiczne, mechaniczne i tribologiczne, powodując wzrost twardości, obniżenie współczynnika tarcia oraz obniżenie poziomu naprężeń w powłoce [37-40]. Dzięki temu mogą być one szczelne i nie ulegać delaminacji nawet przy znacznych jej grubościach. To sprawia, że stanowią one doskonałą barierę dla jonów toksycznych metali podłoża, a tym samym zwiększa się ich biokompatybilność. W związku z powyższym podjęte przeze mnie badania w zakresie powłok z domieszką krzemu dotyczyły oceny możliwości ich stymulującego działania na proliferację komórek, w tym również przyspieszającego procesy osteointegracji oraz działania antybakteryjnego.

Publikacje z zakresu domieszkowania powłok węglowych w większości przypadków opisują badania nad biomateriałami i efektami ich modyfikacji skupiając się albo na charakterystyce fizykochemicznej (często połączonej z mechaniczną) albo ocenie odpowiedzi biologicznej powiązanej z jednym, ewentualnie kilkoma najpowszechniej opisywanymi parametrami strukturalnymi. Ponadto, najczęściej prowadzone są na próbkach wykonanych z materiałów stanowiących prosty model laboratoryjny, jak np. krzem czy szkło kwarcowe. To sprawia, że bardzo trudno jest ocenić możliwość klinicznego zastosowania opracowanych materiałów. W odniesieniu do powyższego, istotnym było dla mnie, aby badania nad modyfikacjami biomateriałów prowadzić kompleksowo i z użyciem odpowiednich materiałów. Ze względu na to, w każdym przedsięwzięciu badawczym, efekty proponowanej i optymalizowanej technologii wytwarzania powłok węglowych z daną domieszką weryfikowałam poprzez badania fizykochemiczne, mechaniczne i biologiczne, a procesy modyfikacji prowadzone były na najczęściej stosowanych w medycynie biomateriałach metalicznych, tj. stali medycznej AISI316LVM, tytanie (Ti) oraz stopach tytanu: z dodatkiem wanadu (Ti6Al4V) lub niobu (Ti6Al7Nb).

Badania efektów biologicznych wywoływanych domieszką danego pierwiastka prowadziłam na powłokach, które były wytwarzane różnymi technikami. Ich wstępny dobór oparty był o doniesienia literaturowe. Finalnie wykorzystywane technologie stanowiły wynik doświadczenia posiadanego przez moich współpracowników z Zakładu Inżynierii Biomedycznej i Materiałów Funkcjonalnych IIM PŁ oraz prac eksperymentalnych przeprowadzonych w ramach kierowanych i realizowanych przeze mnie projektów badawczych. Takie podejście dawało możliwość porównania efektów oddziaływania biologicznego wywoływanego przez powłoki węglowe z tą samą domieszką, ale wytworzonych różnymi technikami.

Zadania badawcze, które realizowałam, cele, jakie one obejmowały, materiały, na których były prowadzone procesy syntezy oraz technologie, które do tego celu zostały zastosowane przedstawiłam na poniższym schemacie.



1) Badania nad efektami biologicznymi wywoływanych przez dodatek srebra prowadziłam w ramach dwóch kierowanych przeze mnie projektów międzynarodowych: *II.J7.* – pt. „Warstwy węgiel-srebro”, akronim **CARSILA**, nr umowy: ERA-NET/MNT/CARSILA/1/2010, realizowany w latach 01.09.2010÷31.08.2013, *II.J11.* – pt. „Powłoki węglowe domieszkowane Ag/Si do zastosowań biomedycznych” akronim **CARLA**, nr umowy: M-ERA.NET/2012/02/2014, realizowany w latach 01.01.2014÷31.12.2016. Wraz z moimi zespołami badawczymi (z Polski i zagranicznych jednostek partnerskich) opracowałam i przebadałam warstwy węglowe wytworzone i domieszkowane srebrem następującymi technikami:

- impulsowego rozpylania magnetronowego wspomaganego plazmą częstotliwości radiowej chemicznego osadzania z fazy gazowej – RF/MS PACVD (z ang. *Radio Frequency/Magnetron Sputtering Plasma Assisted Chemical Vapour Deposition*), gdzie domieszkowanie odbywało się poprzez implantację jonów (**Zad.1.T1**) lub rozpylanie magnetronowe srebrnej katody (**Zad.1.T2**),
- osadzanie laserem impulsowym – c-PLD (z ang. *Combinatorial Pulsed Laser Deposition*) w wyniku ablacji wysokiej czystości targetu Ag (**Zad.1.T3**).

Jedna z powyższych technologii (Zad.1.T2), opracowana w ramach projektu CARSILA [II.J7], dała bardzo dobre efekty w zakresie wprowadzania domieszki srebra do warstwy węglowej i został przyznany na nią **patent [A13; I.B13. – numer prawa wyłącznego: PAT.225955 udzielony na podstawie zgłoszenia nr P.401955 z dn. 10.12.2012 pt. „Sposób wytwarzania nanokompozytowej warstwy węglowej domieszkowanej srebrem na powierzchniach metalicznych”]**, **którego jestem współautorem.**

2) Badania nad efektami biologicznymi wywoływanymi domieszką krzemu prowadziłam w ramach projektu CARLA oraz dwóch innych, tj.: **II.J9** – pt. „Nowe biokompatybilne warstwy Si-DLC na implanty kostne”, akronim **SiMED**, nr umowy: INNOTECH-K1/IN1/18/156542/NCBR/12, realizowany w latach 01.04.2012÷31.03.2015, będąc wykonawcą badań *in vitro* oraz koordynatorem wszystkich badań biologicznych (*in vitro*, *in vivo*, klinicznych) oraz **II.J12** – pt. “MOdified BIOmaterials – MEDicine future”, akronim **MoBioMED**, nr umowy: LIDER/040/707/L-4/12/NCBR/2013, realizowany w latach 01.01.2014÷31.12.2017, którym kierowałam. Domieszkowane warstwy węglowe wytwarzane były poprzez:

- osadzanie z fazy gazowej wspomaganej plazmą generowaną polem elektromagnetycznym wysokiej częstotliwości – RF PACVD (**Zad.2.T1**),
- niereaktywne rozpylanie magnetronowe przy stałym prądzie (DC) lub częstotliwości radiowej (RF) – DC-RF MS PVD (z ang. Direct Current – Radio Frequency Magnetron Sputtering Physical Vapour Deposition) (**Zad.2.T2**),
- osadzanie laserem impulsowym (c-PLD) poprzez ablację wysokiej czystości targetu Si (**Zad.2.T3**).

Dzięki wynikom uzyskanym w projekcie SiMED (Zad.2.T1), realizowanym w konsorcjum z firmą Medgal Sp. z o.o., w roku 2016 w ofercie przedsiębiorstwa znalazły się wyroby medyczne z pokryciem Si-DLC przyspieszające zrost kostny [**certyfiakat CE HD 60101841 0001 oraz ISO 13485 na warstwy Si-DLC stosowane na wszystkich typach implantów produkowanych przez firmę Medgal Sp. z o.o.**]. W zakresie technologicznym **wdrożenie** to oparte zostało na **patencie [A12; I.B12. – prawo wyłączne: PAT.223008 udzielone na podstawie zgłoszenia nr P.398452 z dn. 15.03.2012 pt. „Sposób wytwarzania warstwy węglowej zawierającej krzem na implantach medycznych”]**, **którego jestem współautorem.**

3) Badania nad efektami biologicznymi wywoływanymi przez jednoczesny dodatek srebra i krzemu prowadziłam w ramach kierowanego przeze mnie międzynarodowego projektu **II.J11**. – pt. „Powłoki węglowe domieszkowane Ag/Si do zastosowań biomedycznych” akronim **CARLA**, nr umowy: M-ERA.NET/2012/02/2014, realizowany w latach 01.01.2014÷31.12.2016. Technikami zastosowanymi do wytworzenia powłok z dwoma pierwiastkami wprowadzanymi w jednym procesie, były:

- chemiczne osadzanie z fazy gazowej wspomagane plazmą częstotliwości radiowej połączoną z rozpylaniem magnetronowym – RF/MS PACVD (**Zad.3.T1**),
- technika impulsowego odparowania laserowego wspomaganego matrycą – MAPLE (z ang. Matrix-Assisted Pulsed Laser Evaporation) (**Zad.3.T2**).

Uzyskanie skuteczności w wywoływaniu biologicznych efektów antybakteryjności przy jednoczesnym zachowaniu wysokich parametrów użytkowych powłok domieszkowanych srebrem, których technologia wytwarzania została zastrzeżona patentem oraz bardzo dobre rezultaty w postaci zwiększonej osteoindukcji poprzez zastosowanie domieszki krzemu do powłok węglowych, na technologię wytwarzania których również został przyznany patent, było punktem wyjścia do rozpoczęcia prac nad równoczesnym wprowadzeniem obu tych pierwiastków. Celem było uzyskanie synergicznego efektu zapobiegania infekcjom bakteryjnym i przyspieszonego zrostu kostnego. Badania wpisane w projekt CARLA były pionierskie. W bazie danych Web of Science nie były odnotowane żadne prace naukowe dotyczące jednoczesnego domieszkowania powłok węglowych tymi pierwiastkami przewidzianych do zastosowań biologicznych i/lub medycznych. Moja praca z roku 2016 [A5; I.B5. Lidia Swiatek, Anna Olejnik, Jacek Grabarczyk, Anna Jedrzejczak, Anna Sobczyk-Guzenda, Marta Kaminska, Witold Jakubowski, Witold Szymanski, **Dorota Bociaga**, 2016. Multi-doped diamond like-carbon coatings (DLC-Si/Ag) for biomedical applications fabricated using the modified chemical vapour deposition method, *Diamond & Related Materials*, 67, 54-62], jak i ta z lutego 2018 [A10; I.B10. Duta, L.; Ristoscu, C.; Stan, G. E.; Husanu, M. A.; Besleaga, C.; Chifiriuc, M. C.; Lazar, V.; Bleotu, C.; Miculescu, F.; Mihailescu, N.; Axente, E.; Badiceanu, M.; **Bociaga, D.**; Mihailescu, Ion N., 2018. New bio-active, antimicrobial and adherent coatings of nanostructured Carbon double-reinforced with Silver and Silicon by Matrix-Assisted Pulsed Laser Evaporation for medical applications, *Applied Surface Science*, 441, 871–883], opisujące wyniki uzyskane w ramach projektu CARLA, były pierwszymi dotyczącymi tego zakresu. Dopiero w kwietniu 2018 roku opublikowana została praca Liu i in. dotycząca oceny antybakteryjności powłok „dual-doped Si-Ag”, przy czym jako podłoża zostały użyte materiały niemedyce, mianowicie krzem Si(n100) oraz stal AISI 304 [41].

4.2.5. Cel naukowy badań stanowiących wnioskowane osiągnięcie habilitacyjne

Celem prowadzonych przeze mnie badań było uzyskanie biozgodnej powierzchni biomateriałów metalicznych wywołujących oczekiwaną odpowiedź biologiczną. Realizowałam go poprzez wytwarzanie domieszkowanych powłok węglowych na materiałach implantacyjnych powszechnie stosowanych w medycynie. Wymagania, jakie postawiłam wobec wytwarzanych powłok, to stymulowanie organizmów żywych do wywoływania pożądanego efektu biologicznego oraz spełnienie funkcji ochronnej przed toksycznymi jonami pierwiastków składowych metalicznego materiału podłoża.

Osiągnięcie tak postawionego celu odbyło się poprzez realizację kompleksowych zadań badawczych, które stanowiły kolejno realizowane przeze mnie projekty. Każdy z nich zorientowany był na uzyskanie odpowiedzi, co do możliwości wpływu na interakcję z żywą materią poprzez zastosowanie jednego z pierwiastków **domieszki w powłoce węglowej** – srebra (**Ag**) albo krzemu (**Si**), albo obu (**Ag/Si**) jednocześnie. Procesy wytwórcze powłok i ich domieszkowanie prowadzone były różnymi technikami osadzania chemicznego (**CVD**) oraz fizycznego (**PVD**). Aby zapewnić najlepszy aspekt użytkowy opracowywanych technologii, powłoki syntetyzowane były na powierzchniach próbek ze stali austenitycznej (**AISI316LVM**),

tytanu (**Ti**) oraz stopów tytanu (**Ti6Al4V**, **Ti6Al7Nb**) powszechnie stosowanych w medycynie. Optymalizacja technologii prowadzona była poprzez ocenę właściwości fizykochemicznych, mechanicznych i odpowiedzi biologicznej wytworzonych powłok modyfikujących powierzchnie biomateriałów. Ocena uzyskanych reakcji biologicznych dokonywana była poprzez badania *in vitro* (z wykorzystaniem zarówno eukariotów, jak i prokariotów), *in vivo* oraz **kliniczne**.

Przedstawione poniżej wyniki stanowią rezultat prac badawczych realizowanych od 2010 roku przez krajowe i międzynarodowe zespoły naukowe, z którymi współpracowałam i które prowadziłam w ramach kierowanych przeze mnie projektów lub zadań badawczych w których pełniłam rolę lidera. **Zakres badań, na których się skupiałam, dotyczył oceny reakcji biologicznych dla powłok węglowych domieszkowanych srebrem oraz krzemem wytwarzanych różnymi technikami.** W efekcie szerokiego spektrum testowanych parametrów wytwórczych oraz bieżącej weryfikacji uzyskiwanych powłok poprzez badania ich właściwości fizykochemicznych i mechanicznych, dokonywana była optymalizacja technologii a najlepsze próbki typowane były do dalszych badań polegających na ocenie reakcji biologicznych. Miały one na celu określenie odpowiedzi biologicznej w konkretnych aspektach aplikacyjnych związanych ze zdolnością do działania antybakteryjnego (Ag, Si), stymulującego proliferację komórek, w tym przyspieszające proces osteointegracji (Si) oraz obniżające trombogenność (Si).

4.3. Omówienie osiągniętych wyników

Jony metali ciężkich (takich jak np. chrom, nikiel) uwalniane z biomateriału metalicznego mogą ograniczać zdolności proliferacyjne komórek. Po implantacji do powierzchni biomateriału w pierwszej kolejności przyłącza się bowiem woda, a następnie białka. Jeśli przyłączone białka ulegają denaturacji, np. pod wpływem soli metali ciężkich uwolnionych z materiału podłoża metalicznego, wówczas adherujące do powierzchni komórki nie mają warunków do proliferacji. Jest ona ograniczona lub ulega zahamowaniu. W przypadku pierwiastków o silnym działaniu toksycznym obserwuje się nie tylko zmniejszoną żywotność komórek, ale również silny efekt cytotoksyczny.

Szczelna powłoka węglowa naniesiona na powierzchnię biomateriału uniemożliwia dostanie się niepożądanych jonów metali w obszar biofluidu, stanowiącego strefę kontaktu powierzchni implantu z tkanką żywą. Dzięki temu podwyższony zostaje efekt biokompatybilności materiału, który obserwujemy dla implantów z naniesioną powłoką DLC. Badania techniką atomowej spektrometrii absorpcyjnej medium hodowlanego po 10 dniach i 4 tygodniach inkubacji próbek ze stali AISI316L z naniesioną powłoką węglową i bez niej, potwierdziły skuteczność działania powłoki węglowej jako bariery dla jonów. Natomiast dla materiału niemodyfikowanego zachodziło zjawisko uwalniania znaczących ilości jonów metali Ni, Cr, Fe, co miało swoje skutki w obserwowanym efekcie cytotoksycznym wywieranym na komórki [A1; I.B1. Dorota Bociąga, 2010. Nanostructured Protective Carbon Layer on the

Jeweller's Metallic Material – in vitro verification, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 10(2), 1191-1195].

Mając powyższe na uwadze, w dalszych badaniach w zakresie oceny próbek domieszkowanych srebrem i krzemem, prowadziłam również weryfikację powłok niedomieszkowanych (czyste powłoki węglowe oraz niemodyfikowane podłoża) celem sprawdzenia ich skuteczności jako bariery dla jonów materiału bazowego.

4.3.1. Wyniki w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem

Ad. Zad.1.T1. Wyniki dla powłok DLC na podłożu AISI316LVM wytworzonych technologią RF/MS PACVD domieszkowanych srebrem poprzez implantację jonów.

Badania w zakresie zdolności antybakteryjnych tych powłok przeprowadzone zostały dla próbek o różnej zawartości procentowej srebra w matrycy węglowej. Powłoki DLC uprzednio wytworzone na podłożach AISI316LVM poddano procesowi domieszkowania techniką implantacji jonów, gdzie zastosowane dawki jonów srebra wynosiły 2×10^{16} , 4×10^{16} , 7×10^{16} , 10×10^{16} Ag^+/cm^2 . Dzięki temu uzyskano (odpowiednio) następujące zawartości srebra: 9,05; 5,41; 4,99 oraz 5,13 % at. Energia implantowanych jonów wynosiła 15 keV, co przełożyło się na głębokość penetracji ok. 14 nm. Ocenę właściwości bakteriostatycznych prowadzono poprzez inkubację powłok z komórkami bakteryjnymi *E.coli* szczep DH5 α (bakteria modelowa) i test live/dead. Ocenę skuteczności antybakteryjnej srebra określano w badaniu tak zwanej strefy inhibicji. Jednocześnie prowadzona była analiza właściwości fizykochemicznych powłok z różnymi zawartościami domieszki srebra (morfologia i topografia powierzchni, struktura chemiczna i skład) oraz weryfikacja ich biozgodności poprzez testy cytotoksyczności i proliferacji komórek eukariotycznych. Do badań wybrane zostały komórki endotelialne (linia EA.hy 926 (ACTT, Manassas, USA)) oraz osteoblasty (linia Saos-2 (ACTT, Manassas, USA)) [A2; I.B2. Dorota Bociąga, Piotr Komorowski, Damian Batory, Witold Szymanski, Anna Olejnik, Krzysztof Jastrzebski, Witold Jakubowski, 2015. Silver-doped nanocomposite carbon coatings (Ag-DLC) for biomedical applications – physiochemical and biological evaluation, Applied Surface Science, 355, 388-397].

Najistotniejsze wyniki i spostrzeżenia w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi wytworzonymi technologią RF/MS PACVD domieszkowane srebrem poprzez implantację jonów, to:

- Ilość energii dostarczona do materiału w procesie implantacji jonów ma większy wpływ na proliferację komórek oraz przeżywalność bakterii, aniżeli zawartość procentowa srebra znajdującego się w objętości powłoki pozostającej w kontakcie z materiałem biologicznym.

- Zmiany właściwości powłok węglowych domieszkowanych srebrem metodą implantacji jonów powodowane są przez dwa niezależne zjawiska: powierzchniową zmianę składu chemicznego oraz oddziaływanie wysokoenergetycznej wiązki srebra z modyfikowaną powierzchnią. W efekcie tych zjawisk zmienia się stosunek faz $sp^2/(sp^2+sp^3)$ w matrycy węglowej, a to w następstwie determinuje uzyskiwaną odpowiedź biologiczną.

Metoda implantacji jonów prowadzona na powłoce DLC pozwala na wprowadzanie dużej ilości pierwiastka domieszki Ag nie zmniejszając przy tym ilości wiązań o hybrydyzacji sp^3 , na które to ograniczenie wskazują niektóre zespoły badawcze [42-44]. Jest to istotne osiągnięcie, gdyż pozwala na uzyskiwanie wysokich zawartości procentowych domieszki Ag w powłoce. Dzięki temu uzyskiwane są wysokie wskaźniki bakteriobójczości, a jednocześnie, co potwierdza również literatura, im większa ilość wiązań o hybrydyzacji sp^3 , tym wyższa energia powierzchniowa, a to w efekcie zmienia kąt zwilżania i względną biokompatybilność.

- Zastosowanie metody implantacji jonów do matrycy warstwy węglowej uzyskanej w procesie RF/MS PACVD daje możliwość wprowadzania wysokich zawartości % srebra bez negatywnego wpływu na biogodność materiału pod warunkiem kontroli właściwości fizykochemicznych powierzchni otrzymywanej po przeprowadzonym procesie wprowadzania domieszki srebra.

Perspektywa wprowadzenia wysokiej zawartości srebra stwarza również inne możliwości. Przy odpowiednio dużej ilości Ag wprowadzonej do powłoki węglowej jej charakter może się zmienić z izolatora na przewodnik. Ma to znaczenie dla wywoływanych efektów biologicznych, gdyż może przyspieszać uwalnianie jonów na potrzeby antybakteryjności.

- Powłoki węglowe wytworzone zastosowaniem technologii RF/MS PACVD wykazują bardzo dobrą biokompatybilność. Bez względu na linię komórkową, stanowią dla nich przyjazne środowisko do namnażania i adherowania przy niemal zerowym poziomie toksyczności.
- Zastosowanie metody implantacji jonów do wprowadzania Ag do matrycy gradientowej warstwy węglowej ma szczególny potencjał do zastosowań medycznych, gdyż pozwala na selektywną modyfikację powierzchni implantów.

Ad. Zad.1.T2. Wyniki dla powłok DLC na podłożu AISI316LVM wytworzonych technologią RF/MS PACVD domieszkowanych srebrem poprzez rozpylanie magnetronowe srebrnej katody.

Powłoki węglowe DLC domieszkowane srebrem były wytwarzane przy wykorzystaniu hybrydowej technologii syntezy stanowiącej kombinację technik impulsowego rozpylania magnetronowego oraz wspomaganego plazmą częstotliwości radiowej chemicznego osadzania z fazy gazowej (RF PACVD), która stanowi przedmiot patentu [A13;I.B13. D. Batory,

D. Bociąga, M. Cłapa, M. Czerniak-Reczulska, J. Grabarczyk, W. Jakubowski, W. Kaczorowski, Ł. Kołodziejczyk, P. Komorowski, P. Niedzielski, W. Szymański, numer prawa wyłącznego: **PAT.225955** udzielony na podstawie zgłoszenia nr P.401955 z dn. 10.12.2012 pt. „Sposób wytwarzania nanokompozytowej warstwy węglowej domieszkowanej srebrem na powierzchniach metalicznych”, którego jestem współautorem. Rozpylanie magnetronowe srebrnej katody, przy kontrolowanej gęstości mocy wydzielanej na niej, w atmosferze Ar/CH₄ umożliwia nanoszenie powłoki DLC wzbogacanej w sposób kontrolowany srebrem. Ocena zdolności antybakteryjnych tych powłok przeprowadzona była dla próbek o zawartościach Ag w matrycy węglowej z zakresu 2÷16% at. Wytworzone powłoki zostały scharakteryzowane z punktu widzenia morfologii, parametrów geometrycznych powierzchni, struktury i składu chemicznego oraz zdolności uwalniania jonów. Ocenę właściwości antybakteryjnych prowadzono poprzez inkubację powłok z komórkami bakteryjnymi *E.coli* szczep DH5α i analizę ich przeżywalności oraz zdolności do kolonizacji powierzchni. Weryfikację biogodności prowadzono poprzez test live/dead na komórkach osteoblastycznych (linia Saos-2 (ACTT, Manassas, USA)) analizując ich przeżywalność i granularność oraz występowanie zjawiska nekrozy [A4; I.B4. **Dorota Bociąga**, Witold Jakubowski, Piotr Komorowski, Anna Sobczyk-Guzenda, Anna Jędrzejczak, Damian Batory, Anna Olejnik, 2016. Surface characterization and biological evaluation of silver-incorporated DLC coatings fabricated by hybrid RF PACVD/MS method, *Materials Science & Engineering: C - Materials for Biological Applications*, 63, 462-474].

Najistotniejsze wyniki i spostrzeżenia w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi wytworzonymi technologią RF/MS PACVD domieszkowane srebrem poprzez rozpylanie magnetronowe srebrnej katody, to:

- Srebro wprowadzane do amorficznej osnowy powłok węglowych ma tendencję do tworzenia konglomeratów, które nie wiążą się chemicznie w podłożem, a których rozmiar i liczba wzrasta proporcjonalnie do koncentracji srebra. Wskutek zwiększania się ilości utworzonych konglomeratów, rosną parametry chropowatości powierzchni oraz jej rozwinięcie. W efekcie czynna powierzchnia uwalniania jonów srebra jest większa, co ma swoje odzwierciedlenie w wynikach oporności na kolonizację bakteryjną powłok.
- W przypadku podłoża ze stali medycznej i zastosowania metody rozpylania magnetronowego do implantacji jonów Ag otrzymanie pożądanej odpowiedzi biologicznej można uzyskać poprzez wprowadzenie odpowiedniej ilości domieszki srebra. Obserwowany jest bowiem zwiększający się efekt bakteriobójczości i bakteriostatyczności wraz z rosnącą zawartością srebra obecnego w wytworzonej warstwie. Optymalna zawartość Ag, przy której powłoki te zachowują swoją biokompatybilność, przy jednoczesnym osiągnięciu zdolności do zwiększonej oporności na kolonizację bakteryjną, to ok. 2% at.
- Ważnym wynikiem uzyskanym dla tych powłok, jest ich potwierdzona zdolność uwalniania jonów Ag w czasie. Dzięki temu, co może być szczególnie istotne dla

implantów długoterminowych, możliwe jest uzyskanie efektu utrzymania bakteriobójczości przez długi okres poprzez wpływ na grubość wytworzonej powłoki, która stanowi źródło srebra zdolnego do sukcesywnego uwalniania.

- Wzrost zawartości % Ag w powłoce węglowej syntetyzowanej techniką RF/MS PACVD powoduje obniżenie ilości fazy sp^3 , a wartość stosunku sp^2/sp^3 wykazuje rosnący trend wraz ze wzrostem mocy wyładowania. W stosunku do metody implantacji jonów, gdzie istniała dość duża swoboda w zwiększaniu ilości Ag bez obniżania zawartości fazy sp^3 w mieszaninie $sp^2/(sp^2+sp^3)$, jest to istotna różnica wpływająca na zdolności adhezyjne komórek do podłoża.
- Powłoki węglowe wytwarzane w procesie RF PACVD, zarówno z domieszką srebra, jak i bez, na stali AISI316LVM stanowią skuteczną barierę dyfuzyjną dla jonów pierwiastków składowych materiału podłoża. Dzięki temu mogą być bezpiecznie stosowane jako powłoki chroniące przez reakcjami zapalnymi i alergicznymi wywoływanymi produktami degradacji biomateriału podłoża.

Ad. Zad.1.T3. Wyniki dla powłok C:Ag na podłożu z tytanu (Ti) wytworzonych technologią c-PLD domieszkowanych Ag poprzez laserową ablację targetu.

Metoda PLD została zaproponowana do wytworzenia domieszkowanych powłok węglowych, ponieważ oferuje dużą elastyczność i może być stosowana do stopniowej modyfikacji składu chemicznego oraz do generowania różnych gradientów stężeń. Powłoki C:Ag zostały przygotowane poprzez jednoczesną ablację laserem dwóch targetów wysokiej czystości: grafitu (99,99%) oraz srebra (99,99%). Uzyskano i badano próbki o siedmiu różnych przedziałach zawartości srebra z zakresu od ok. 0,33 do ok. 43,0 % at. Wytworzone powłoki zostały scharakteryzowane z punktu widzenia morfologii, parametrów geometrycznych powierzchni i jej energii, struktury i składu chemicznego. Ocenę właściwości antybakteryjnych prowadzono poprzez badanie zdolności kolonizacji oraz tworzenia biofilmu z wykorzystaniem bakterii Gram-dodatnich (G+), Gram-ujemnych (G-) oraz grzybów należących do gatunków najczęściej bytujących na implantach medycznych. Weryfikację biogodności prowadzono z wykorzystaniem komórek osteoblastopodobnych (linia MG-63 (ACTT®, CRL-1427™)) analizując ich przeżywalność i występowanie zjawiska nekrozy [A6; I.B6. Ion N Mihăilescu, **Dorota Bociaga**, Gabriel Socol, George E Stan, Mariana-Carmen Chifiriuc, Coralia Bleotu, Marius A Husanu, Gianina Popescu-Pelin, Liviu Duta, Catalin R Luculescu, Irina Negut, Claudiu Hapenciuc, Cristina Besleaga, Irina Zgura, Florin Miculescu, 2016. Fabrication of antimicrobial Silver-doped Carbon structures by combinatorial pulsed laser deposition, *International Journal of Pharmaceutics*, 515, 592–606].

Najistotniejsze wyniki i spostrzeżenia w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi wytworzonymi technologią c-PLD domieszkowane srebrem poprzez laserową ablację targetu, to:

- Srebro wprowadzane wraz z węglem do powłoki metodą c-PLD pozostaje z nim niezwiązane a samo tworzy sferyczne cząstki bogate w Ag, których rozmiar i liczba wzrasta proporcjonalnie do koncentracji srebra.
- W przypadku powłok z domieszką Ag wytwarzanych metodą PLD na intensywność efektu antybakteryjnego znacznie większy wpływ mają właściwości fizyczne powierzchni, z uwzględnieniem chropowatości i hydrofobowości, które determinują proces adhezji drobnoustrojów, aniżeli zawartość procentowa srebra. Działanie antybakteryjne powłok C:Ag nie jest proporcjonalne do stężenia srebra w powłoce. Intensywność działania próbek zawierających ok. 0,3% at. Ag ma bardzo podobny poziom, co próbek z ~2% at. oraz ~7% at. i ~ 40% at. Ag.
- Ilość wprowadzonego do powłoki srebra ma znaczący wpływ na jej toksyczność w stosunku do komórek eukariotycznych. Tylko najniższe stężenie Ag wynoszące poniżej 1% at. nie wywołuje tego efektu, a apoptoza komórek pozostaje na akceptowalnie niskim poziomie. Powłoki z ilością Ag powyżej 1% at. wywołują umiarkowany lub silny efekt toksyczny oraz zwiększony poziom apoptozy.
- Powłoki C:Ag syntetyzowane technologią PLD są stabilne w czasie. Po 18 miesiącach przechowywania w normalnych warunkach atmosferycznych i temperaturowych nie obserwuje się segregacji jonów srebra w kierunku powierzchni. Na to zjawisko wskazują inne zespoły badawcze opisując tworzenie się nanowłókien srebra (pochodzącego z nanocząstek i nanoaglomeratów znajdujących się w objętości powłoki) w obszarze przypowierzchniowym już po 3 miesiącach [45]. Zmiana wyjściowego składu powłoki, jak opisuje Yun i in. oraz Miksovsky i in. [46, 47], nie pozostaje obojętna dla późniejszej odpowiedzi biologicznej. Podobnie jak zmiany w morfologii powierzchni czy też niewystarczająca w długoterminowej perspektywie stabilność powłok w czasie, co opisuje Marciano i in. [48]. Uzyskany wynik jest zatem bardzo istotny z punktu widzenia możliwości przewidywania odpowiedzi biologicznej, w szczególności do zastosowań na implanty długoterminowe.

4.3.2. Wyniki w zakresie odpowiedzi biologicznych wywołanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi krzemem

Ad. Zad.2.T1. Wyniki dla powłok DLC domieszkowanych krzemem wytworzonych technologią RF PACVD na podłożu AISI316LVM oraz Ti6Al4V.

Na próbkach ze stali medycznej AISI 316LVM oraz stopu tytanu Ti6Al4V naniesione zostały powłoki węglowe typu DLC domieszkowane krzemem poprzez zastosowanie mieszaniny CH₄/HDMSO w technologii RF PACVD, na którą został udzielony patent [A12; I.B12. prawo wyłączone: PAT.223008 udzielone na podstawie zgłoszenia nr P.398452 z dn. 15.03.2012 pt. „Sposób

wytwarzania warstwy węglowej zawierającej krzem na implantach medycznych”]. Wprowadzany do komory metan stanowił źródło węgla, a opary heksametylodisiloksanu były źródłem krzemu i jednocześnie tlenu (na istotność którego w odniesieniu do biokompatybilności wskazują doniesienia literaturowe [36]). Na potrzeby prowadzenia tych procesów przebudowane zostało urządzenie do osadzania plazmochemicznego. Doposażono je w układ dopasowania pozwalający na płynną kontrolę potencjału autopolaryzacji elektrody, elektrody z trzema wymiennymi stolikami i przepustem chłodzonym wodą, umożliwiającym dostosowanie geometrii elektrody do wielkości i rodzaju modyfikowanych detali (ze względu na różne rozmiary i geometrie implantów, które były później modyfikowane na potrzeby badań klinicznych). Domieszkowanie powłok węglowych krzemem realizowane było poprzez precyzyjny system dozowania prekursora krzemoorganicznego HMDSO do komory reaktora w postaci parownika (z ang. bubbler). Próbki do badań zostały przygotowane przez firmę Medgal Sp. z o.o. Do opracowywania i optymalizacji technologii modyfikacji powierzchni implantów warstwami Si-DLC firma dostarczyła wyroby próbne, tj.: gwoździe śródszpikowe, płytki DHS, wkręty kostne, śruby szyjkowe standardowe i teleskopowe, śruby kompresyjne i kompensacyjne. Do przeprowadzenia badań właściwości mechanicznych zastosowane zostały wyroby implantacyjne: gwoździe śródszpikowe, wkręty kostne oraz płytki stabilizacyjne. Prace nad optymalizacją procesu syntezy na gotowych wyrobach pozwoliły na ujednoczenie cech mechanicznych i wizualnych implantów niezależnie od ich wielkości, masy i geometrii oraz przygotowanie do zasadniczych badań odpowiedzi biologicznej. Te wykonano na reprezentatywnych próbkach odniesienia a do testów na królikach (*in vivo*) zostały wytypowane wkręty kostne. Badania kliniczne przeprowadzono z wykorzystaniem gwoździ śródszpikowych typu Gamma oraz płytek dłoniowych. Wszystkie próbki zostały zmodyfikowane z wykorzystaniem optymalnych parametrów procesów opracowanych w efekcie wcześniej przeprowadzonych badań fizykochemicznych i mechanicznych. Ostatecznie, zarówno na podłożu stalowym, jak i ze stopu tytanu, wytworzono powłoki węglowe o zawartości Si ok. 3, 4 i 5 % at. Scharakteryzowano je z punktu widzenia morfologii, parametrów geometrycznych powierzchni, struktury i składu chemicznego, a następnie poddano weryfikacyjnym badaniom biokompatybilności oraz ocenie zdolności antybakteryjnych. Poprzez test live/dead wykonany w kontakcie bezpośrednim z barwieniem fluorescencyjnym oceniono *in vitro* toksyczność powłok i ich wpływ na zdolności proliferacyjne dwóch linii komórkowych: osteoblastycznych Saos-2 (ACTT, Manassas, USA) oraz endotelialnych EA.hy 926 (ACTT, Manassas, USA). Ocenę właściwości antybakteryjnych prowadzono poprzez inkubację powłok z komórkami bakteryjnymi *E.coli* szczep DH5 α i analizę ich przeżywalności oraz zdolności do kolonizacji powierzchni. Wyniki tych badań wykazały, że najniższa zawartość domieszki krzemu, wynosząca ok. 3% at., w przypadku obu linii komórkowych i dla obu podłoży, powoduje stopień proliferacji wyższy niż dla materiału kontrolnego. Zawartość krzemu w ilości 5% at. powodowała obniżenie właściwości mechanicznych i adhezji powłok do podłoża. Natomiast wyniki dla bakterii wskazały na najwyższą zdolność do redukcji ich liczby poprzez oddziaływanie powłoki zawierającej ok. 4% at. krzemu. W związku z powyższym to zawartość domieszki krzemu w powłoce węglowej

wynosząca 4% at. została wytypowana do wytworzenia próbek celem przeprowadzenia dalszych badań.

Ocena odpowiedzi biologicznej została przeprowadzona w Instytucie Medycyny Pracy im. Prof. Nofera w Łodzi w oparciu o zgodę Lokalnej Komisji Etycznej nr 9 i obejmowała: badanie cytotoksyczności *in vitro*, walidację metody maksymalizacji Magnussona i Kligmana do badania działania uczulającego oraz badanie działania uczulającego *in vivo* na świnkach morskich, badanie reaktywności śródskórnej oraz działania drażniącego na królikach. Wyniki zawarte zostały w raportach składanych firmie w toku realizacji projektu a następnie były przez nią przedłożone jednostce notyfikowanej prowadzącej procedurę mającą na celu certyfikację wyrobów medycznych z powłokami Si-DLC [firma uzyskała **certyfiakat CE HD 60101841 0001 oraz ISO 13485** na warstwy Si-DLC stosowane na wszystkich typach produkowanych przez nią implantów]. Ze względu na fakt, że materiały te stanowiły własność firmy, nie podlegały publikowaniu. Weryfikacja opracowanej technologii pod kątem bezpieczeństwa co do odpowiedzi biologicznej w modelu *in vitro* dała podstawy do badań na ludziach. Ze względu na różne rodzaje wszczepianych implantów, które podlegały weryfikacji, prowadzonych je dwuośrodkowo – w Klinice Ortopedii i Traumatologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku oraz NZOZ ALFA-BIS w Białymstoku. Do badań klinicznych firma zdecydowała się wskazać dwa wyroby implantacyjne, których wyprodukowanie wiąże się z zastosowaniem najobszerniejszego procesu technologicznego (tzw. „najgorszy przypadek”, również w odniesieniu do innych typów wyrobów), dla których zmiana właściwości jest najbardziej prawdopodobna w wyniku realizacji wielu operacji produkcyjnych i złożonej budowy geometrycznej. W związku z powyższym podwójnie zaślepienie randomizowane badania kliniczne fazy III, mające na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa stosowania wyrobu medycznego, zostały przeprowadzone na tytanowych gwoździach śródszpikowych udowych proksymalnych (typu GAMMA) wraz z dedykowanymi śrubami i wkrętami pokrytymi warstwą węglową DLC oraz Si-DLC [A11; I.B11. Krzysztof Koryszewski, Dorota Bociąga, Rafał Skowroński, 2015. Results of peritrochanteric fracture treatment with carbon (DLC) and silicon-carbon (Si-DLC) coated Gamma nail – preliminary report (Wyniki leczenia złamań okołokrętarzowych leczonych gwoździem Gamma pokrytych warstwą węglową DLC i węglowo-krzemową Si-DLC – doniesienie wstępne, Chirurgia Narządów Ruchu i Ortopedia Polska, 80 (4), 171-175], oraz stalowych płytek dłoniowych do zespołów dalszej nasady kości promieniowej wraz z dedykowanymi wkrętami pokrytymi warstwą węglowo-krzemową Si-DLC.

Pewien zakres wyników uzyskanych w projekcie SiMED nie został opublikowany. Wszystkie natomiast znajdują się w raporcie końcowym złożonym do NCBiR oraz w dokumentacji podłożonej przez firmę Medgal Sp. z o.o. jednostce notyfikowanej w drodze ubiegania się o certyfikację wyrobów medycznych z powłokami Si-DLC (opisywanymi w tej części). Rezultaty projektu były prezentowane za zgodą firmy i na mocy ustaleń zawartych w umowie konsorcjum w formie wystąpień ustnych na konferencjach polskich i zagranicznych [II.L11, II.L15, II.L16, II.L17].

Najistotniejsze wyniki i spostrzeżenia w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi krzemem wytworzonych technologią RF PACVD, to:

- Technika RF PACVD pozwala uzyskać stosunkowo grubą powłokę o bardzo dobrej adhezji do podłoża (dodatek krzemu zmniejsza w niej naprężenia wewnętrzne). Dzięki temu na implantach metalicznych stanowi skuteczną barierę dyfuzyjną dla jonów metali podłoża stanowiących stal medyczną AISI316LVM lub stop tytanu Ti6Al4V. To wskazuje na możliwość ich stosowania u osób z nadwrażliwością (alergia).
- Procesy modyfikacji biomateriałów metalicznych AISI316LVM i Ti6Al4V poprzez zastosowanie technologii RF PACVD przy wykorzystaniu mieszaniny CH₄/HDMSO wpływają na morfologię ich powierzchni. Wraz ze wzrostem zawartości krzemu w powłoce zmniejszają się parametry jej chropowatości, co nie przekłada się na zależność poziomu proliferacji komórek eukariotycznych.
- Metoda RF PACVD, pozwała uzyskać powłoki węglowe domieszkowane krzemem, które działają stymulująco na proliferację komórek, powodując w efekcie przyspieszone procesy osteointegracji. To stymuluje zrost kostny, a w efekcie skraca się czas powrotu chorych do aktywności sprzed urazu.
- Czyste warstwy węglowe jak i domieszkowane krzemem wytwarzane w procesie RF PACVD, bez względu na rodzaj podłoża, są biokompatybilne, nie mają negatywnego wpływu na otaczające je tkanki, ani na wskaźniki morfologiczne i biochemiczne krwi. Ponadto charakteryzują się wysoką odpornością na korozję w środowisku fizjologicznym oraz na ścieranie.
- Dla obu materiałów podłoża domieszka krzemu w powłokach węglowych (bez względu na jej zawartość) daje efekt bakteriostatyczny. Największą efektywność w zakresie bakteriobójczości daje domieszka ok. 4% at. krzemu w powłoce węglowej na stali medycznej.

Ad. Zad.2.T2. Wyniki dla powłok DLC domieszkowanych krzemem technologią DC-RF MS PVD wytworzonych na podłożu AISI316LVM oraz Ti6Al7Nb.

Domieszkowanie powłok węglowych krzemem (Si) zostało zrealizowane na podłożach metalicznych: stali medycznej AISI316 LVM oraz stopie tytanu Ti6Al7Nb z wykorzystaniem metody rozpylania magnetronowego. Do wytworzenia powłok węglowych (DLC) wykorzystano impulsowe rozpylanie stałoprądowe źródła grafitowego, natomiast domieszka wprowadzana była z wykorzystaniem działa magnetronowego, pracującego w systemie RF, umożliwiającemu rozpylenie materiału domieszki. Poprzez dobór mocy rozpylania źródła domieszki uzyskiwane były różne zawartości krzemu w matrycy węglowej. Aby uzyskać powłoki Si-DLC zastosowano moce od 10 do 80 W, co pozwoliło osiągnąć ilość krzemu w zakresie od 1,7% at. do 20,8% at. na podłożu AISI316 LVM oraz od 1,8% at. do 21,8% at. na

podłożu ze stopu tytanu Ti6Al7Nb. Wszystkie próbki analizowane były pod kątem składu chemicznego, morfologii i topografii powierzchni oraz swobodnej energii powierzchniowej. W zakresie optymalizacji technologii badano również właściwości mechaniczne [A7; I.B7. **Dorota Bociąga**, Anna Sobczyk-Guzenda, Witold Szymanski, Anna Jedrzejczak, Aleksandra Jastrzebska, Anna Olejnik, Krzysztof Jastrzebski, 2017. *Mechanical properties, chemical analysis and evaluation of antimicrobial response of Si-DLC coatings fabricated on AISI 316 LVM substrate by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method for potential biomedical applications*, *Applied Surface Science*, 417, 2017, 23–33] [A9; I.B9. **Dorota Bociąga**, Anna Sobczyk-Guzenda, Witold Szymanski, Anna Jedrzejczak, Aleksandra Jastrzebska, Anna Olejnik, Lidia Swiatek, Krzysztof Jastrzebski, 2017. *Diamond like carbon coatings doped by Si fabricated by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method - Mechanical properties, chemical analysis and biological evaluation*, *Vacuum*, 143, 395-406]. Badania odpowiedzi biologicznej obejmowały ocenę proliferacji i przeżywalności komórek eukariotycznych przy użyciu testu live/dead oraz testu kolorymetrycznego opartego na solach tetrazolowych XTT, który wykorzystuje się do obliczenia metabolizmu mitochondrialnego i aktywności łańcucha oddechowego komórek. Oba testy, pozwalające określić żywotność komórek w kontakcie z badanymi powłokami, wykonano dla dwóch linii komórkowych, tj. komórek kościotwórczych linii Saos-2 (ATCC, Nr kat. HTB-85) oraz komórek śródbłonna linii EA.hy926 (ATCC, Nr kat. CRL2922). Obie linie stymulowano kontaktem z powłokami DLC domieszkowanymi krzemem zarówno na podłożu ze stali AISI316LVM, jak i stopu tytanu Ti6Al7Nb. Kontrolę stanowiły komórki niestymulowane kontaktem z żadnym z ww. biomateriałów. Ponieważ krzem wskazywany jest w literaturze jako pierwiastek poprawiający hemokompatybilność, przeprowadzona została ocena trombogenności *in vitro* wytworzonych powłok domieszkowanych Si w próbie kontaktu z krwią. Badania prowadzono dwutorowo: oceniano agregację i aktywację płytek w pełnej krwi po 1-godzinnym kontakcie z badaną powłoką oraz oceniano adhezję, aktywację i agregację płytek krwi na powierzchni badanych powłok po 1-godzinnym kontakcie z krwią. Uzyskane wyniki analizowano w powiązaniu z właściwościami fizykochemicznymi naniesionych powłok [A3; I.B3. **Dorota Bociąga**, Marta Kamińska, Anna Sobczyk-Guzenda, Krzysztof Jastrzebski, Lidia Świątek, Anna Olejnik, 2016. *Surface properties and biological behaviour of Si-DLC coatings fabricated by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method for medical applications*, *Diamond & Related Materials*, 67, 41-50]. W ramach oceny działania antybakteryjnego powłok domieszkowanych krzemem na obu podłożach (AISI316LVM oraz Ti6Al7Nb) przeprowadzone zostały badania podatności na zasiedlanie powierzchni przez bakterie *E.coli* (szcep DH5α) [A7; I.B7. **Dorota Bociąga**, Anna Sobczyk-Guzenda, Witold Szymanski, Anna Jedrzejczak, Aleksandra Jastrzebska, Anna Olejnik, Krzysztof Jastrzebski, 2017. *Mechanical properties, chemical analysis and evaluation of antimicrobial response of Si-DLC coatings fabricated on AISI 316 LVM substrate by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method for potential biomedical applications*, *Applied Surface Science*, 417, 2017, 23–33], [A9; I.B9. **Dorota Bociąga**, Anna Sobczyk-Guzenda, Witold Szymanski, Anna Jedrzejczak, Aleksandra Jastrzebska, Anna Olejnik, Lidia Swiatek, Krzysztof Jastrzebski, 2017. *Diamond like carbon coatings doped by Si fabricated by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method - Mechanical properties, chemical analysis and biological evaluation*, *Vacuum*, 143, 395-406].

Najistotniejsze wyniki i spostrzeżenia w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi krzemem wytworzonych technologią DC-RF PVD, to:

- Dla powłok węglowych domieszkowanych krzemem wytwarzanych techniką DC-RF MS PVD najlepsze wyniki w zakresie działania stymulującego proliferację, ograniczającego aktywację płytek krwi przy zachowaniu bakteriostatyczności uzyskuje się dla krzemu w ilości ok. 2% at. zarówno na podłożu AISI316LVM, jak i Ti6Al7Nb.
- Domieszka Si wprowadzana do powłoki węglowej metodą rozpylania magnetronowego nie powoduje powstawania aglomeratów – krzem jest równomiernie rozłożony na powierzchni. Wzrost zawartości Si w powłoce powoduje niewielki wzrost wartości parametrów chropowatości. Zmiany te, czy to dla podłoża ze stali, czy ze stopu tytanu, są niewielkie i między kolejnymi stężeniami domieszki pozostają nieistotne statystycznie.
- Wprowadzenie Si do osnowy węglowej promuje tworzenie się wiązań węgla o hybrydyzacji sp^3 , zarówno w przypadku powłok osadzanych na stali, jak i na stopie tytanu.
- Wraz ze wzrostem ilości krzemu w powłokach maleją wartości naprężeń w nich występujących, co stanowi o ich dobrych właściwościach użytkowych.
- Wraz ze wzrostem zawartości krzemu rośnie zawartość wiązań Si-O o charakterze polarnym. Związane jest to z wyższym powinowactwem O_2 do krzemu niż do węgla. W efekcie obserwowany jest wzrost zwilżalności powierzchni oraz składowej polarnej swobodnej energii powierzchniowej. Po procesie sterylizacji znacząco wzrasta zwilżalność powierzchni, co przekłada się na możliwości adhezji komórek.
- Żadna z badanych powłok węglowych domieszkowanych Si techniką DC-RF MS PVD nie wykazuje cytotoksyczności względem badanych komórek eukariotycznych bez względu na ilość wprowadzonego pierwiastka. Niemniej jednak różne linie komórkowe z różną intensywnością proliferują na tych powierzchniach, a różnice te są bardziej związane z rodzajem podłoża, na jakie zostały naniesione powłoki, aniżeli z ilością samego krzemu. Ilość domieszki, która zapewnia powłokom biokompatybilność bez względu na rodzaj komórek i zastosowanego biomateriału metalicznego, to ok. 2% at. Si.
- W przypadku powłok Si-DLC na podłożu AISI316LVM najmniejszą podatność na zasiedlanie przez bakterie osiąga się dla powłok o zawartości Si ok. 2% at., zaś na podłożu Ti6Al7Nb dla powłok zawierających ok.14 % at. Si
- Powłoki DLC domieszkowane Si nie wpływają w istotny sposób na agregację oraz aktywację płytek w pełnej krwi. Obserwuje się natomiast wpływ badanych domieszek oraz ich stężenia na adhezję płytek krwi do powierzchni badanych powłok. Dla powłok domieszkowanych Si na podłożu AISI316LVM najniższą adhezję oraz stopień aktywacji płytek krwi wywołuje dodatek Si w ilości ok.2% at. Dla wyższych zawartości Si wzrasta nie tylko adhezja, ale i aktywacja płytek krwi. Co więcej, dla powłok Si-DLC na podłożu Ti6Al7Nb nie obserwuje się poprawy trombogenności – liczba płytek krwi oraz ich aktywacja nie ulega zmniejszeniu w wyniku obecności krzemu.

Ad. Zad.2.T3. Wyniki dla powłok węglowych domieszkowanych krzemem C:Si na podłożu Ti wytworzonych techniką c-PLD.

Dwa wysokiej czystości targety, grafitowy (99.99%) oraz Si (99.99%), posłużyły do wytworzenia powłok z domieszką Si poprzez ich jednoczesną ablację laserem. Uzyskano i badano próbki o siedmiu różnych przedziałach zawartości krzemu z zakresu od ok. 0,33 do ok. 43,0 % at. Wytworzone powłoki zostały scharakteryzowane z punktu widzenia morfologii, parametrów geometrycznych powierzchni i jej energii, struktury i składu chemicznego. Ocenę właściwości antybakteryjnych prowadzono poprzez badanie zdolności kolonizacji oraz tworzenia biofilmu z wykorzystaniem bakterii Gram-dodatnich (G+), Gram-ujemnych (G-) oraz grzybów należących do gatunków najczęściej bytujących na implantach medycznych. Weryfikację biogodności prowadzono z wykorzystaniem komórek nabłonka (HEp-2, ATCC® CCL-23™) analizując ich przeżywalność i cykl komórkowy. [A8; I.B8. Mihaiescu, Ion; Bociaga, Dorota; Popescu-Pelin, Gianina; Stan, George; Duta, Liviu; Socol, Gabriel; Chifiriuc, Carmen; Bleotu, Coralia; Lazar, Veronica; Husanu, Marius; Zgura, Irina; Miculescu, Florin; Negut, Irina; Hapenciuc, Claudiu, 2017. *Optimized silicon reinforcement of carbon coatings by pulsed laser technique for superior functional biomedical surfaces fabrication, Biofabrication, 9, 025029*].

Najistotniejsze wyniki i spostrzeżenia w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi krzemem wytworzonych technologią c-PLD, to:

- Domieszkowanie powłok węglowych metodą PLD prowadzi do otrzymania warstw, które wykazują gładką i zwartą morfologię, a w których tworzą się sferoidalne cząstki. Ich średnica (~ 2,5-3 μm) pozostaje na stałym poziomie bez względu na ilość Si w powłoce. Wraz ze wzrastającą ilością krzemu zwiększa się natomiast gęstość występowania tych sferoidów.
- Metoda c-PLD pozwala na uzyskanie powłok węglowych domieszkowanych Si o bardzo dobrych właściwościach pod kątem zastosowań medycznych dla szerokiego zakresu zawartości tego pierwiastka, mianowicie 7-20% at. Przy odpowiednim doborze ilości wprowadzonego Si, uwzględniając środowisko drobnoustrojów, z którymi powłoka będzie miała kontakt, można uzyskać również efekt ochrony przez tworzeniem się biofilmów przy zachowaniu biogodności wobec komórek eukariotycznych.
- Powłoki C:Si wytworzone na tytanie metodą c-PLD cechują się wyjątkowo wysoką adhezją do podłoża, która znacząco przewyższa wartość progu określonego w normie ISO dla wysoko obciążonych zastosowań biomechanicznych. To stanowi o ich wysokim potencjale aplikacyjnym na zespolenia ortopedyczne i pary cierne.
- Dla koncentracji krzemu do ok. 6% at. wartość energii powierzchniowej pozostaje na stałym poziomie. Po przekroczeniu tej wartości kąt zwilżania wodą zmniejsza się a energia powierzchniowa wzrasta wraz z ilością krzemu, aż do momentu, gdy jego zawartość przekroczy 33% at. Rosnąca ilość krzemu powoduje zmianę charakteru

powłoki na bardziej hydrofilowy, co wpływa na zdolności adhezyjne komórek do podłoża.

- Trudno określić precyzyjnie zależność między ilością krzemu wprowadzonego do powłoki węglowej metodą c-PLD a jej antymikrobiologicznymi właściwościami. Najlepszy poziom ochrony przeciwko szczepom takim jak: *P. aeruginosa* (gram ujemny), *E. faecalis* (gram dodatni) i *C. albicans* (szczep grzybów) wykazują powłoki zawierające powyżej 2% at. Si.

4.3.3. Wyniki w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i krzemem

Ad. Zad.3.T1. Wyniki dla powłok DLC na podłożu Ti6Al7Nb wytworzonych techniką RF/MS PACVD domieszkowanych srebrem i krzemem (Ag/Si).

Technika syntezy warstw węglowych DLC z jednoczesnym domieszkowaniem srebrem oraz krzemem na stopie tytanu Ti6Al7Nb oparta została na opatentowanej metodzie dostarczania krzemu (Si) do komory reaktora w postaci ciekłego prekursora przy wykorzystaniu mieszaniny CH₄/HDMSO (metan/heksametylodisiloksan) [A12; I.B12. prawo wyłączne: PAT.223008 udzielone na podstawie zgłoszenia nr P.398452 z dn. 15.03.2012 pt. „Sposób wytwarzania warstwy węglowej zawierającej krzem na implantach medycznych”], w wyniku której z sukcesem wytwarzane były powłoki węglowe domieszkowane Si wdrożone na wyrobach medycznych w firmie Medgal Sp. z o.o. (opisane w Zad.2.T1). Celem wprowadzenia domieszki srebra wykorzystano elektrodę RF do rozpylania targetu Ag. Przepływ prekursora krzemu (HDMSO) pozostawał na stałym poziomie, podczas gdy układ wymiennych przesłon maskujących rozpylany target srebrowy umożliwiał zmianę ilości domieszki srebra przedostającej się z obszaru rozpylania magnetronowego do obszaru plazmy metanowej odpowiedzialnej za wytworzenie warstwy węglowej. Pozwoliło to na zróżnicowanie ilości domieszki srebra wprowadzonej do powłoki węglowej, a w konsekwencji na optymalizację tego sposobu dostarczania Ag. Ostatecznie badano powłoki, w których zawartość Ag/Si ustaliła się odpowiednio na poziomie: 1,36/2,94% at., 1,63/1,85% at., 2,09/1,65% at. Ich charakterystykę prowadzono pod względem morfologii i topografii powierzchni, zwilżalności i energii powierzchniowej, składu chemicznego i struktury oraz twardości. Finalnie efektywność powłok domieszkowanych krzemem i srebrem, w zakresie ich działania stymulującego proliferację komórek oraz działania antybakteryjnego, weryfikowana była w badaniu odpowiedzi biologicznej w modelu komórkowym *in vitro* poprzez ocenę cytotoksyczności i żywotności komórek śródbłonna (linia EA.hy 926 (ATCC, USA)) w teście live/dead oraz ocenę odporności na kolonizację bakterii (*E.coli*, szczep DH5α) [A5; I.B5. Lidia

Swiatek, Anna Olejnik, Jacek Grabarczyk, Anna Jedrzejczak, Anna Sobczyk-Guzenda, Marta Kaminska, Witold Jakubowski, Witold Szymanski, **Dorota Bociąga**, 2016. Multi-doped diamond like-carbon coatings (DLC-Si/Ag) for biomedical applications fabricated using the modified chemical vapour deposition method, *Diamond & Related Materials*, 67, 54-62].

Najistotniejsze wyniki i spostrzeżenia w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i krzemem wytworzonych technologią RF/MS PACVD, to:

- Zmodyfikowana metoda RF PACVD pozwala na syntezę powłok diamentopodobnych zawierających srebro i krzem (Ag/Si) na stopie Ti6Al7Nb podczas jednego procesu.
- Wytworzone warstwy Ag/Si-DLC charakteryzują się globularną strukturą, a srebro zawarte w matrycy węglowej wykazuje tendencję do tworzenia aglomeratów o różnej wielkości i nieregularnym kształcie, które są nierównomiernie rozmieszczone na powierzchni powłoki. Ich liczba i rozmiar rośnie wraz ze wzrostem zawartości Ag w powłokach. Aglomeraty srebra tworzą tzw. „struktury-wyspy”, co może wynikać z wysokiej aktywności atomów Ag, w efekcie czego dochodzi do jego dyfuzji i formowania się wysp.
- Najwyższą twardość wykazują powłoki o najniższej zawartości srebra i największej zawartości Si. Efektem wzrastającego stężenia Ag jest spadek twardości, co jest zjawiskiem dość powszechnie opisywanym w literaturze. W przypadku powłok domieszkowanych srebrem i krzemem, pozytywny wpływ Si na twardości powłok DLC przewyższa negatywny wpływ dodatku Ag. Dodanie obydwu domieszek zapewnia zatem dobre właściwości mechaniczne powłok.
- Dzięki tworzeniu się grup Si-O-Ag, srebro wbudowuje się chemicznie w powłokę tworząc wiązania z innymi jej składnikami. Wynik jest dość znaczący, gdyż zgodnie z literaturą, Ag zawarte w powłokach DLC występuje w stanie metalicznym [A2; 1.B2. **Dorota Bociąga, Piotr Komorowski, Damian Batory, Witold Szymanski, Anna Olejnik, Krzysztof Jastrzebski, Witold Jakubowski**, 2015. Silver-doped nanocomposite carbon coatings (Ag-DLC) for biomedical applications – physiochemical and biological evaluation, *Applied Surface Science*, 355, 388-397], [29, 49] i pozostaje jedynie mechanicznie wbudowane w matrycę węglową. Brak wiązań chemicznych pomiędzy Ag a innymi składnikami powłoki tłumaczone jest niskim powinowactwem srebra do węgla (co potwierdziły również moje badania dla domieszkowania srebrem technikami przebadanymi w ramach zadania 1). Jednoczesne domieszkowanie powłok DLC srebrem i krzemem sprzyja zatem tworzeniu wiązań chemicznych między srebrem i innymi składnikami powłok węglowych.
- Chemiczne powiązanie srebra z podłożem może eliminować prawdopodobieństwo występowania zjawiska segregacji srebra w powłoce [45] i długoterminowego niekontrolowanego uwalniania jonów srebra, przy jednoczesnym wywoływaniu zmian fizykochemicznych powierzchni, w tym silnego pogorszenia właściwości tribologicznych [50].

- Budowa struktury chemicznej oddaje zależności opisywane w literaturze. Dla próbek o największej zawartości Si a najniższej Ag rośnie stosunek sp^3/sp^2 , ponieważ krzem ma zdolność do promowania powstawania obszarów węgla o hybrydyzacji sp^3 . Zwiększająca się zawartość srebra, którego obecność według danych literaturowych wpływa z kolei na tworzenie się obszarów węgla o hybrydyzacji sp^2 , powoduje wzrost uporządkowania struktury. Zaburzenie następuje w przypadku próbki z najwyższą zawartością srebra (a najniższą krzemu) – efekt dodatku srebra jest stłumiony.
- Pomiary swobodnej energii powierzchniowej wykazały, że wszystkie otrzymane powierzchnie DLC są hydrofobowe, podczas gdy powierzchnia substratu, tj. Ti6Al7Nb, jest bardziej hydrofilowa. W przypadku powłok Ag/Si-DLC zwilżalność i całkowita energia swobodna powierzchni, niezależnie od stężenia Si i Ag, nie zmienia się znacząco. Wynika to z faktu, że pozytywny wpływ krzemu na zwilżalność powierzchni jest niwelowany przez ujemny wpływ srebra.
- Jednoczesne domieszkowanie Ag i Si (przy zachowaniu odpowiedniego ich stosunku) pozwala uzyskać powłoki o dobrej biokompatybilności i wysokich właściwościach antybakteryjnych. Dodatek srebra hamuje bowiem adhezję komórek i indukuje cytotoksyczność. Jeśli stężenie Ag nie przekracza ok. 1,5% at. i jest zrównoważone przez właściwą ilość krzemu (ok. 3% at.), jako pierwiastka zwiększającego zgodność biologiczną, można zastosować powłokę węglową DLC domieszkowaną Ag/Si jako skuteczny biomateriał przeciwbakteryjny do zastosowań medycznych.

Ad. Zad.3.T2. Wyniki dla powłok C:Ag:Si na podłożu Ti wytworzonych techniką MAPLE domieszkowanych srebrem i krzemem (Ag/Si).

Technika MAPLE została wybrana ze względu na udowodnione łagodniejsze warunki osadzania oraz fakt, że metoda ta pozwala wytwarzać powłoki, które bardzo dobrze odwzorowują skład, strukturę i morfologię materiału wyjściowego, zachowując przy tym ich funkcjonalność i zachowanie biologiczne. W celu wytworzenia targetów, z których następnie wytwarzano powłoki, proszek węgla mieszany był ze srebrem i krzemem w różnych proporcjach. Depozycje powłok prowadzono w temperaturze pokojowej. Uwzględniając doniesienia literaturowe, że obróbka termiczna może poprawiać właściwości mechaniczne syntetyzowanych struktur, część próbek, po depozycji, poddano takiemu zabiegowi. Wygrzewanie prowadzono w próżni (10-3Pa) w temperaturze 400°C przez 1 godzinę. Optymalne stężenia Si i Ag w syntetyzowanych powłokach węglowych zostały dobrane na podstawie wcześniejszych badań przeprowadzonych dla tych domieszek w ramach Zad.1.T3 oraz Zad.2.T3. Wybrano następujące proporcje C:Ag:Si: 88,65:1,85:9,5; 84:7:9 (% at.). Powłoki charakteryzowano pod kątem morfologii powierzchni, składu chemicznego i struktury. Testy biologiczne *in vitro* prowadzono pod kątem działania antybakteryjnego na szczepach drobnoustrojów *S. aureus* (ATCC 6538), *S. epidermidis* (ATCC 15305), *E. faecalis* (ATCC 29212), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) i *C. albicans* (ATCC 26790). Weryfikację

biogodności prowadzono z wykorzystaniem komórek osteoblastopodobnych (linia MG-63 (ACTT®, CRL-1427™)), analizując ich morfologię, przeżywalność i zdolność do adhezji [A10; I.B10. Duta, L.; Ristoscu, C.; Stan, G. E.; Husanu, M. A.; Besleaga, C.; Chifiriuc, M. C.; Lazar, V.; Bleotu, C.; Miculescu, F.; Mihailescu, N.; Axente, E.; Badiceanu, M.; **Bociaga, D.**; Mihailescu, Ion N., 2018. *New bio-active, antimicrobial and adherent coatings of nanostructured Carbon double-reinforced with Silver and Silicon by Matrix-Assisted Pulsed Laser Evaporation for medical applications, Applied Surface Science, 441, 871–883*].

Najistotniejsze wyniki i spostrzeżenia w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powierzchnie biomateriałów metalicznych modyfikowanych powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i krzemem wytworzonych technologią MAPLE, to:

- Obecność defektów samego podłoża odgrywa zasadniczą rolę w topografii powłok syntetyzowanych w warunkach nierównowagi, typowych dla fizycznych metod osadzania. W takim przypadku atomy doprowadzane do powierzchni podłoża, ze względu na posiadaną niską energię kinetyczną, nie są w stanie przekroczyć przeszkód topograficznych, a w konsekwencji aglomerują na nich. Dlatego naniesione powłoki węglowe domieszkowane Ag i Si odwzorowują topografię tytanowego podłoża. Składają się z drobnoziarnistej matrycy, w której osadzone są cząstki sferoidalne (o średnicach w zakresie 0,09÷1,3 μm). Różny rozmiar cząstek stałych i ich losowy rozkład w istotnym zakresie wpływają na stosunkowo wysokie wartości chropowatości.
- W przypadku powłok węglowych domieszkowanych Ag i Si wytwarzanych metodą MAPLE istnieje wyraźna zależność między chropowatością powierzchni a jej zdolnością do działania przeciwdrobnoustrojowego, która zwiększa się ze względu na rosnącą powierzchnię właściwą.
- Wzrost zawartości wiązań o hybrydyzacji sp² w obszarach przypowierzchniowych, i większej ilości wiązań o hybrydyzacji sp³ na większej głębokości powłoki, odzwierciedla obecność na powierzchni sferoidalnych cząstek wzbogaconych w srebro, które znane jest w literaturze jako pierwiastek promujący powstawanie obszarów węgla o hybrydyzacji sp². Wprawdzie zmniejszona ilość sp³ na powierzchni może podwyższać zdolność komórek do adhezji, ale jednocześnie zwiększa się ilość srebra, która na silnie rozwiniętej powierzchni ma dużą dostępność do bezpośredniego kontaktu z medium, a tym samym do uwalniania srebra w postaci jonowej zdolnego do działania bakteriobójczego.
- Termiczna obróbka powłok po depozycji sprzyja tworzeniu bardziej amorficznych powierzchni i wzrostowi wartości stosunku faz sp²/sp³ odpowiadających za hybrydyzację węgla.
- Stosunkowo niska zawartość domieszki Ag, wynosząca ok. 2% at. sprzyja biokompatybilności, a jednocześnie zmniejsza zdolność zasiedlania powierzchni przez mikroorganizmy charakterystyczne dla zakażeń szpitalnych (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* i *C. albicans*). Działanie przeciwdrobnoustrojowe znacznie

zwiększa się przy stężeniu Ag wynoszącym ok. 3,5% at., podczas gdy cytotoksyczność utrzymuje się na poziomie zapewniającym biokompatybilność.

- Domieszkowane powłoki węglowe wytwarzane techniką MAPLE wykazują optymalne właściwości w zakresie biozgodności i wysoką zdolność bakterioobójczą, gdy zawierają ok. 3,5% at. Ag oraz ok. 9,5% at. Si.

4.4. Wnioski w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez modyfikowane powierzchnie biomateriałów metalicznych

4.4.1. Najistotniejsze wnioski w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powłoki węglowe domieszkowane srebrem

Najważniejsze wnioski i spostrzeżenia dotyczące zmian w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez biomateriały metaliczne modyfikowane powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem, to:

- Wszystkie rodzaje procesów plazmowych wykorzystanych przeze mnie w badaniach do wytworzenia warstwy węglowej domieszkowanej srebrem potwierdziły, że efekty biologiczne uzyskiwane poprzez jego zastosowanie opierają się w największym stopniu na zjawiskach fizykochemicznych, które są skutkiem zmian uzyskiwanych w drodze prowadzenia procesów wytwarzania warstwy węglowej oraz jej domieszkowania.
- Każda z zastosowanych i przebadanych przeze mnie metod wytwarzania i domieszkowania srebrem warstw węglowych na podłożach ze stali medycznej AISI316LVM, stopu tytanu Ti6Al4V oraz tytanu (Ti) pozwala uzyskać taki skład powłoki i jej właściwości, przy których jest ona biomateriałem ograniczającym wzrost bakterii przy jednoczesnym zachowaniu biokompatybilności i efektywnie spełnia funkcję bariery dla pierwiastków składowych metalicznego podłoża.
- Zastosowanie metody implantacji jonów do wprowadzania Ag do matrycy gradientowej warstwy węglowej DLC uzyskanej w procesie RF PACVD daje możliwość uzyskania wysokich zawartości % tego pierwiastka bez negatywnego wpływu na biozgodność materiału. Warunkiem jest ścisła kontrola właściwości fizykochemicznych powierzchni generowanych procesem implantacji.
- Domieszkowanie srebrem metodą jonową prowadzi do zmniejszenia parametrów chropowatości powierzchni, podczas gdy technika magnetronowa i osadzania laserem impulsowym powoduje tworzenie się konglomeratów srebra, które powodują znacznie większe zmiany w morfologii powierzchni, rosnące wraz z ilością wprowadzonego Ag. Niezależnie od powyższego, odpowiedź biologiczna na powłoki

węglowe zawierające srebro jest bardziej uzależniona od właściwości fizykochemicznych materiału aniżeli od jego topografii.

- Ze względu na uzyskiwany zmienny efekt uwalniania jonów srebra w czasie można stosować odpowiednią technologię wytwarzania, aby otrzymać powłoki z domieszką srebra, które są bardzo stabilne w czasie (metoda PLD) lub mają zdolność sukcesywnego dostarczania jonów srebra z objętości powłoki do jej powierzchni i ich uwalniania (RF/MS PACVD).
- Srebro, które ma małe powinowactwo do węgla i w matrycę węglową wbudowuje się mechanicznie (zarówno w wyniku technologii CVD, jak i PVD), można chemicznie związać z podłożem poprzez jednoczesne domieszkowanie krzemem. W jego obecności, oraz tlenu, Ag tworzy grupy Si-O-Ag, tym samym wiążąc się chemicznie.
- Dla różnych linii komórkowych ta sama morfologia powierzchni węglowej domieszkowanej srebrem może determinować odmienną odpowiedź biologiczną.
- Te same stężenia srebra skutkują różnym poziomem przeżywalności komórek w zależności od ich linii, co stanowi bardzo istotny wniosek. Oznacza to bowiem, że aby uzyskać oczekiwany efekt biogodności, z rozważą należy wybierać technologię oraz odpowiednio dobierać zawartość procentową Ag i kontrolować parametry powierzchniowe powłok.

4.4.2. Najistotniejsze wnioski w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez powłoki węglowe domieszkowane krzemem

Najważniejsze wnioski i spostrzeżenia dotyczące zmian w zakresie odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez biomateriały metaliczne modyfikowane powłokami węglowymi domieszkowanymi krzemem, to:

- Warstwy węglowe wytwarzane na podłożu ze stali medycznej AISI316LVM oraz stopu tytanu Ti6Al4V z domieszką pierwiastka krzemu pozwalają uzyskać biomateriał przyspieszający zrost kostny, przy jednoczesnym zachowaniu jego wysokiej biokompatybilności, biostabilności oraz efektu ograniczania zdolności bakterii do zasiedlania jego powierzchni.
- Wprowadzenie dodatku krzemu do powłoki węglowej korzystnie wpływa na zmniejszenie naprężeń w warstwie. Stwarza to możliwość wytwarzania powłok o większej grubości, twardości i adhezji do metalicznego podłoża. Przekłada się to korzystnie na zwiększenie biokompatybilności implantu poprzez zapewnienie lepszej ochrony metalicznego podłoża, za pośrednictwem grubszej i bardziej szczelnej bariery dyfuzyjnej dla jonów metalu, oddzielając w ten sposób materiał metaliczny od tkanek organizmu. Poprawa właściwości mechanicznych, dzięki zastosowaniu domieszki krzemowej, daje zatem możliwość poszerzenia oferty implantów modyfikowanych z wszczepów krótkookresowych również na długookresowe. W tym wypadku

warstwa węglowo – krzemowa spełnia nie tylko rolę biokompatybilnej bariery dyfuzyjnej, ale pozwala także na zmniejszenie tarcia w węzłach trybologicznych, przyczyniając się do zwiększenia trwałości implantu i poprawy jego właściwości funkcjonalnych.

- Dodatek krzemowy w warstwie węglowej korzystnie wpływa na ograniczenie zdolności bakterii do zasiedlania powierzchni implantu. Pozwala to na zmniejszenie ryzyka pojawienia się trudnych do usunięcia z organizmu biofilmów bakteryjnych, a tym samym powikłań na tle infekcji pooperacyjnych. Należy jednak wyraźnie zaznaczyć, że zdolności biobójcze krzemu nie są tak wysokie, jak srebra.
- Warstwy Si-DLC cechują się hemokompatybilnością – cecha szczególnie pożądana w przypadku implantów przeznaczonych do kontaktu z krwią. Dodatek krzemu do powłoki węglowej sprzyja w tym wypadku lepszej biotolerancji implantu w otoczeniu komórek krwi i zmniejsza ryzyko powstawania zakrzepów. Ta cecha warstw węglowo-krzemowych stwarza możliwość ich zastosowania w kardiochirurgii.
- W przypadku powłok węglowych domieszkowanych Ag i Si wytwarzanych metodą MAPLE można uzyskać bardzo dobre właściwości antybakteryjne przy niskich zawartościach % at. Ag poprzez ich wygrzewanie. Zabieg ten powoduje bowiem znaczny wzrost zawartości fazy sp^2 oraz rozwinięcie powierzchni. Dzięki temu zwiększa się dostępność srebra, a jednocześnie zostaje zachowana bardzo wysoka biokompatybilność.

4.5. Podsumowanie w zakresie zmian odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez biomateriały metaliczne w wyniku modyfikacji ich powierzchni powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i/lub krzemem

Najważniejsze wnioski i spostrzeżenia w zakresie zmian odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez biomateriały metaliczne w wyniku modyfikacji ich powierzchni powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i krzemem są następujące:

1. Modyfikacje powierzchni, prowadzące do poprawy ich właściwości hydrofilowych i uzyskania dla nich wyższej energii powierzchniowej, sprzyjają rozprzestrzenianiu się (prolifercja) i adhezji komórek. Takie efekty fizykochemiczne dla powłok węglowych wywołuje dodatek krzemu. Dzięki temu możliwym jest otrzymanie pozytywnych rezultatów w zakresie podwyższenia poziomu osteosyntezy, czy też niwelowania przeciwnego wpływu dodatku srebra.
2. Cieńsze powłoki są bardziej stabilne w czasie i uwalniają znikome ilości pierwiastka domieszki. W grubszych powłokach dochodzi do zjawisk segregacji, w wyniku których

srebro przemieszcza się w czasie z objętości powłoki ku jej powierzchni. W rezultacie może być ono sukcesywnie uwalniane z powłoki dając długookresowy efekt antybakteryjny. Zastrzeżeniem jest tutaj kontrola tego procesu.

3. Srebro ma potwierdzone działanie antybakteryjne, jednak mechanizmy i efektywność jego oddziaływania na mikroorganizmy są zróżnicowane w zależności od zastosowanej techniki wprowadzania do powłoki węglowej.
4. Srebro ma działanie toksyczne. Skala jego cytotoksyczności zależy od formy, stężenia, dostępności, innych pierwiastków znajdujących się w jego bliskości i rodzaju komórek eukariotycznych, z którymi pozostaje w kontakcie.
5. Parametrami, które w najsilniejszy sposób wpływają na reakcje żywej materii na kontakt z powierzchnią danego materiału, są: skład chemiczny, struktura oraz topografia, przy czym parametry morfologii w mniejszym stopniu determinują odpowiedź biologiczną.
6. Chemia powierzchni, zwilżalność i chropowatość wpływają w sposób złożony na adhezję komórek. Obraz jest jeszcze bardziej skomplikowany, ponieważ różne typy komórek lepiej przylegają do powierzchni o określonych wartościach energii powierzchniowej. Ponieważ ta z kolei jest zaburzana przez wprowadzane pierwiastki domieszki, w sposób indywidualny należy traktować każdą z nich analizując wyniki dla konkretnego przypadku.
7. Odpowiedź biologiczna wobec powłoki węglowej zawierającej określoną domieszkę różni się w zależności od zastosowanego materiału podłoża. Wynika to z odmiennej struktury oraz składu chemicznego biomateriałów metalicznych, co w efekcie prowadzi do uzyskania różnic we właściwościach fizykochemicznych powłok nanoszonych na nie, nawet jeśli wykonywane są tą samą techniką przy tych samych parametrach.
8. Należy mieć na uwadze, że obserwowane różnice w odpowiedzi biologicznej na kontakt z daną powierzchnią nie są efektem bezpośredniej reakcji na dany materiał. Wynikają one bowiem z szeregu czynników powierzchniowych oraz z reakcji, które zachodzą w obszarze tzw. biofluidu, tworzącego się w momencie kontaktu materiału z materią żywą. Mogą być zatem wynikiem ilości białek zaabsorbowanych na powierzchni próbek, które osadzają się tam w pierwszej kolejności, a pochodzą z różnych źródeł. W przypadku komórek eukariotycznych chodzi głównie o białka odpowiedzialne za powstanie macierzy pozakomórkowej, do których zaliczamy między innymi proteoglikany i glikoproteiny, takie jak fibronektyna, laminina i kolagen. Jeśli chodzi zaś o agregację i aktywację trombocytów, kluczowe znaczenie będą miały takie białka jak fibrynogen i albumina, odpowiadające za te zjawiska. Poza samą ilością białek na powierzchni, istotnym zagadnieniem jest również ich aktywność biologiczna (związana między innymi z konformacją białek), która może być zmieniona, lub może być jej brak.

9. Wraz ze spadkiem kąta zwilżania i zmianą powierzchni z hydrofobowej na hydrofilową zwiększa się adhezja i proliferacja komórek eukariotycznych. Jednocześnie należy zaznaczyć, że zarówno powierzchnie silnie hydrofobowe, jak i hydrofilowe, nie sprzyjają kolonizacji powierzchni przez komórki eukariotyczne. W przypadku powierzchni hydrofobowych możliwa jest denaturacja zarówno komórek, jak i białek odpowiedzialnych za ich adhezję do powierzchni, zaś dla powierzchni hydrofilowych możliwa jest preferencyjna adsorpcja cząsteczek wody.
10. Kolejnym parametrem mogącym wpływać na zmiany w proliferacji i adhezji komórek (a w efekcie na odpowiedź biologiczną) jest rodzaj struktury warstwy węglowej oraz związany z tym stosunek wiązań sp^2/sp^3 . Struktura typu sp^2 , która charakteryzuje fazę grafitu, powoduje zmniejszenie adhezji białek i komórek do powierzchni w przeciwieństwie do warstw z przewagą struktury sp^3 , charakterystycznej dla fazy diamentu. Może to być związane z obecnością wolnych elektronów na powierzchni powłoki węglowej, które utrudniają adhezję białek i komórek.
11. Na odpowiedź biologiczną wpływ może mieć także sam skład chemiczny badanych powłok, tj. stężenie danej domieszki, jak i obecność różnego rodzaju tlenków na powierzchni. Obecność danego pierwiastka oraz jego tlenków, a także ich ilość, mogą wpływać na odpowiedź biologiczną zarówno pozytywnie, jak i negatywnie, np. poprzez działanie cytotoksyczne.

Podsumowując, należy stwierdzić, że obserwowana odpowiedź biologiczna jest wypadkową wielu różnych właściwości badanych powłok i zjawisk na nich zachodzących. W związku z tym jednoznaczne określenie prostej korelacji między danymi parametrami a obserwowaną odpowiedzią biologiczną jest niezwykle trudne. Kontrolowanie kilku najbardziej istotnych parametrów, dla których da się określić stałe zależności, oraz eksperymentalna weryfikacja uzyskiwanych rezultatów, wydaje się być najbardziej słuszną ścieżką postępowania, dającą szanse na opracowanie materiałów możliwych do wdrożenia w aplikacjach medycznych.

4.6. Wskazanie osiągnięcia naukowego mającego znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna

Uzyskane przeze mnie wyniki badań, umieszczone w cyklu 11 wybranych najważniejszych publikacji i 2 patentów wpłynęły w istotny sposób na rozwój wiedzy związanej z tematyką powłok węglowych domieszkowanych srebrem oraz krzemem na biomateriałach metalicznych i mają charakter aplikacyjny w zakresie medycznym.

Reasumując, głównym moim osiągnięciem naukowym, mającym znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna jest wykazanie, że wykorzystując różne metody chemicznego i fizycznego osadzania cienkich powłok węglowych z odpowiednim pierwiastkiem domieszki możliwe jest osiągnięcie zamierzonego efektu reakcji biologicznej, takiego jak:

- zwiększenie stopnia i szybkości proliferacji komórek eukariotycznych,
- przyspieszony wzrost kostny,
- zmniejszenie stopnia zasiedlania biomateriału przez bakterie,
- zwiększony efekt bakteriobójczości,
- zwiększona hemokompatybilność.

Oprócz tak szeroko rozumianego głównego osiągnięcia naukowego, w trakcie realizacji zakresu badań, odnotowałam dwanaście osiągnięć szczegółowych, dotyczących zmian odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez biomateriały metaliczne w wyniku modyfikacji ich powierzchni powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i krzemem, wytwarzanymi różnymi metodami chemicznego i fizycznego osadzania:

1. Opracowałam i opisałam korelacje między ilością domieszki srebra, morfologią powierzchni oraz składem chemicznym i strukturalnym powłok wytwarzanych różnymi technikami a efektem odpowiedzi komórek eukariotycznych oraz mikroorganizmów.
2. Wyznaczyłam optymalne zawartości srebra jako domieszki, które w powłoce węglowej wytwarzanej daną technologią zapewniają najbardziej skuteczne działanie antybakteryjne, a jednocześnie posiadają wysoką biokompatybilność.
3. Wykazałam możliwość stosowania powłok węglowych z domieszką srebra do zastosowań na implanty krótko- i długoterminowe w zależności od grubości powłoki węglowej, zjawiska jej segregacji i zdolności do uwalniania jonów.
4. Udowodniłam, że parametry fizykochemiczne syntetyzowanych powłok z domieszką srebra mają większy wpływ na wywoływane reakcje biologiczne aniżeli sama zawartość srebra.

5. Opracowałam i opisałam korelacje między ilością domieszki krzemu, morfologią powierzchni oraz składem chemicznym i strukturalnym powłok wytwarzanych różnymi technikami a efektem odpowiedzi komórek eukariotycznych oraz mikroorganizmów.
6. Wyznaczyłam optymalne zawartości krzemu jako domieszki, która to ilość w powłoce węglowej wytwarzanej daną technologią działa stymulująco na proliferację komórek i jednocześnie ma działanie antybakteryjne.
7. Wykazałam, że dodatek krzemu w powłoce węglowej może działać stymulująco w pierwszej fazie zrostu kostnego (faza zapalna), a przez to wpływać na szybsze pojawienie się kostniny i w efekcie przyspieszać zrost kostny.
8. Wykazałam, że ta sama technika syntezy powłok z domieszką krzemu na różnych podłożach metalicznych daje różną odpowiedź biologiczną.
9. Wykazałam, że jednoczesne wprowadzenie srebra i krzemu do powłoki węglowej umożliwia chemiczne związanie srebra z innymi pierwiastkami podłoża.
10. Wykazałam, że krzem obecny w powłoce węglowej zapobiega występowaniu zjawisk aktywacji i agregacji płytek krwi, a tym samym zmniejsza ryzyko powstawania skrzepów.
11. Wykazałam, że wzrost zawartości fazy sp^2 w powłoce domieszkowanej Ag oraz Si otrzymany poprzez jej wygrzewanie, pozwala uzyskać bardzo dobre właściwości antybakteryjne przy bardzo małych zawartościach srebra.
12. Udowodniłam, że zarówno domieszkowane, jak i niedomieszkowane powłoki węglowe wytwarzane różnymi technikami mogą stanowić skuteczną barierę dla jonów pierwiastków składowych biomateriałów metalicznych.

Ponadto, wartym podkreślenia jest fakt, że jako pierwsza zaproponowałam jednoczesne domieszkowanie srebrem i krzemem powłok węglowych przewidzianych do zastosowań biologicznych i/lub medycznych. Do dnia dzisiejszego pojawiły się jedynie 3 prace naukowe odnotowane w bazie danych Web of Science, które dotyczą tego zakresu, z czego dwie są mojego autorstwa i ukazały się jako pierwsze.

Dodatkowo wyniki, które uzyskałam w zakresie badania zmian odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez biomateriały metaliczne w wyniku modyfikacji ich powierzchni powłokami węglowymi domieszkowanymi srebrem i krzemem, mają użyteczny charakter.

Opisane przeze mnie reakcje biologiczne na zsyntetyzowane materiały odnoszą się bowiem do podłoży metalicznych będących w powszechnym użyciu klinicznym. Nie wymagają zatem przewidywania reakcji po przeniesieniu z próbek wzorcowych, w odróżnieniu od badań opisywanych w literaturze.

Za moje najważniejsze osiągnięcie aplikacyjne uważam uzyskanie znaku CE dla implantów z warstwą Si-DLC. Koordynowałam bowiem i uczestniczyłam we wszystkich przeprowadzonych badaniach biologicznych (*in vitro*, *in vivo*, kliniczne) poprzedzających to wdrożenie. Przygotowałam dokumentację niezbędną do uzyskania przez firmę certyfikatu zgodności i brałam udział w procedurze prowadzonej przez jednostkę notyfikowaną, która weryfikowała, czy wyroby z warstwą Si-DLC spełniają odnoszące się do nich wymagania zasadnicze.

Literatura:

- [1] Medical Implants Market Report, published by Allied Market Research “Medical Implants Market By Type (Orthopedic Implants, cardiac implants, Stents, Spinal Implants, Neurostimulators, dental implants, Breast Implants, facial Implants) and By Materials (Metallic, Ceramic, Polymers, Natural) - Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2014 - 2022”
- [2] W. Chen, S. Oh, A.P. Ong, N. Oh, Y. Liu, H.S. Courtney, M. Appleford, J.L. Ong, Journal of Biomedical Materials Research. Part A 82 (2007) 899–906
- [3] P. Metzler, C. von Wilmsowky, B. Stadlinger, W. Zemann, K.A. Schlegel, S. Rosiwal, S. Rupprecht, Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery 41 (2013) 532–538
- [4] Weihong Jin, Paul K. Chu, Orthopedic Implants in Encyclopedia of Biomedical Engineering edited by Roger Narayan, Elsevier, 2019, pp. 425-439
- [5] S. Morais, M.C. Pereira, J. Trace Elem. Med. Biol. 14 (2000) 48–54
- [6] Kręcisz B., Alergia 4 (2012) 17-18
- [7] B. Gruendemann, S. Mangum, Infection Prevention in Surgical Settings, Elsevier (2001)
- [8] Close J. Wilson, Infection Control in Clinical Practice, Elsevier (2006)
- [9] Darouiche RO, Treatment of infections associated with surgical implants N. Engl. J. Med. 350 (2004) 1422–9
- [10] V. Antoci, A.F. Chen, J. Parvizi, 7.9 – Orthopedic Implant Use and Infection. In Comprehensive Biomaterials II, volume 7, edited by Paul Ducheyne, Elsevier, Oxford, 2017, volume 7, pp.133-151
- [11] Zhong Li, Khiam Aik Khor, Preparation and Properties of Coatings and Thin Films on Metal Implants. In Encyclopedia of Biomedical Engineering edited by Roger Narayan, 2019, pp. 203-212
- [12] Love, C.V., Cook, R.B., Harvey, T.J., Dearnley, P.A., Wood, R.J.K., Tribology Int. 63 (2013) 141-150
- [13] T.I.T. Okpalugo, A.A. Ogwu, 11 - DLC thin films for implantable medical devices. In Thin Film Coatings for Biomaterials and Biomedical Applications edited by Hans J. Griesser, Woodhead Publishing 2016, pp. 261-287.
- [14] A. Grill, Surf. Coat. Technol. 94–95 (1997) 507–513
- [15] A. Dorner, C. Schurer, G. Reisel, G. Irmer, O. Seidel, E. Muller, Wear 249 (2001) 489–497
- [16] R. Hang, S. Ma, P.K. Chu, Diam. Relat. Mater. 19 (2010) 1230–1234
- [17] M.I. Jamesh, P. Li, M.M. Bilek, R.L. Boxman, D.R. McKenzie, P.K. Chu, Corros. Sci., 97 (2015) 126–138
- [18] F.Z. Cui, D.J. Li, Surf. Coat. Technol. 131 (2000) 481–487
- [19] R. Hauert, Tribol. Int. 37 (2004) 991–1003.
- [20] G. Dearnaley, J.H. Arps, Surf. Coat. Technol. 200 (2005) 2518–2524
- [21] X.S. Tang, H.J. Wang, L. Feng, L.X. Shao, C.W. Zou, Appl. Surf. Sci. 311 (2014) 758–762
- [22] L. Joska, J. Fojt, Appl. Surf. Sci. 262 (2012) 234–239
- [23] E.M. Regan, J.B. Uney, A.D. Dick, Y. Zhang, J. Nunez-Yanez, J.P. McGeehan, F. Claeysens, S. Kelly, Biomaterials 31 (2010) 207–215
- [24] A. Grill, Diamond Relat. Mater. 12 (2003) 166-170
- [25] M.L. Morrison, R.A. Buchanan, P.K. Liaw, C.J. Berry, R.L. Brigmon, L. Riester, H. Abernathy, C. Jin, R.J. Narayan, Diamond Relat. Mater. 15 (2006) 138–146
- [26] K.Baba, R.Hatada, S.Flege, W.Ensinger, Y.Shibata, J.Nakashima, T.Sawase, T.Morimura, Vacuum, 89 (2013) 179-184
- [27] J.L. Endrino, A. Anders, J.M. Albella, J.A. Horton, T.H. Horton, P.R. Ayyalasomayajula, M. Alle, J. Phys. Conf. Ser. 252 (1) (2010) 01–2012

- [28] F.R. Marciano, L.F. Bonetti, L.V. Santos, N.S. Da-Silva, E.J. Corat, V.J. Trava-Airoldi, *Diam. Relat. Mater.* 18 (5–8) (2009) 1010–1014
- [29] S.C.H. Kwok, W. Zhang, G.J. Wan, D.R. McKenzie, M.M.M. Bilek, P.K. Chu, *Diamond & Related Materials* 16 (2007) 1353–1360
- [30] H.W. Choi, R.H. Dauskardt, S.C. Lee, K.R. Lee, K.H. Oh, *Diamond Relat. Mater.* 17 (2008) 252–257
- [31] J.L. Endrino, R.E. Galindo, H.-S. Zhang, M. Allen, R. Gago, A. Espinosa, A. Anders, *Surf. Coat. Technol.* 202 (2008) 3675–3682
- [32] R. Hauert, *Diamond Relat. Mater.* 12 (2003) 583
- [33] A. Bendavid, P.J. Martin, C. Comte, E.W. Preston, A.J. Haq, F.S. Magdon Ismail, R.K. Singh, *Diamond & Related Materials* 16 (2007) 1616–1622
- [34] Q. Zhao, Y. Liu, C. Wang, S. Wang, *Applied Surface Science* 253 (2007) 7254–7259
- [35] D.W. Ren, Q. Zhao, A. Bendavid, *Surf. Coat. Technol.* 226 (2013) 1–6
- [36] I. De Scheerder, M. Szilard, Y.M. Huang, X.B. Ping, E. Verbeken, D. Neerincq, E. Demeyere, W. Coppens, F. Van de Werf, *J. Invasive Cardiol.* 12 (2000) 389–394
- [37] M.G. Kim, K.R. Lee, K.Y. Eun, *Surf. Coat. Technol.* 112 (1999) 204–209
- [38] K.R. Lee, M.G. Kim, S.J. Cho, K.Y. Eun, T.Y. Seong, *Thin Solid Films* 308–309 (1997) 263–267
- [39] A.K. Gangopadhyay, P.A. Willermet, M.A. Tamour, W.C. Vassell, *Tribol. Int.* 30 (1997) 9–18
- [40] A. Soum-Glaude, G. Rambaud, S.E. Grillo, L. Thomas, *Thin Solid Films* 519 (2010) 1266–1271
- [41] Xiaoqiang Liu, Yanfei Lin, Jia Xiang, Junying Hao, Xinyuan Wan, *Diamond & Related Materials* 86 (2018) 47–53
- [42] C.P. Lungu, *Surf. Coat. Technol.*, 200 (2005), pp. 198–202
- [43] Š. Meškinius, A. Čiegis, A. Vasiliauskas, A. Tamulevičienė, K. Šlapikas, R. Juškeenas, G. Niaura, S. Tamulevičius, *Appl. Surf. Sci.*, 317 (2014), pp. 1041–1046
- [44] S.F. Ahmed, M. Moon, K. Lee, *Appl. Phys. Lett.*, 92 (2008), p. 193502
- [45] Manninen, N.K., Galindo, R.E., Carvalho, S., Cavaleiro, A., *Surf. Coat. Technol.* 267 (2015) 90–97
- [46] J. Miksovsky, A. Voss, R. Kozarova, T. Kocourek, P. Pisarik, G. Ceccone, W. Kulisch, M. Jelinek, M.D. Apostolova, J.P. Reithmaier, C. Popov, *Appl. Surf. Sci.* 297 (2014) 95–102
- [47] D.Y. Yun, W.S. Choi, Y.S. Park, B. Hong, *Appl. Surf. Sci.* 254 (2008) 7925–7928
- [48] F.R. Marciano, J.S. Marcuzzo, L.F. Bonetti, E.J. Corat, V.J. Trava-Airoldi, *Surf. Coat. Technol.* 204 (2009) 64–68
- [49] H.W. Choi, J.H. Choi, K.R. Lee, J.P. Ahn, K.H. Oh, *Thin Solid Films* 516 (2–4) (2007) 248–251
- [50] N.K. Manninen, F. Ribeiro, A. Escudeiro, T. Polcar, S. Carvalho, A. Cavaleiro, *Surf. Coat. Technol.* 232 (2013) 440–446

4.7. Perspektywy dalszego rozwoju

Dotychczasowe moje osiągnięcia skłaniają mnie do tego, aby dalsze prace badawcze prowadzić dwukierunkowo.

1. Kontynuacja badań nad powłokami węglowymi domieszkowanymi różnymi pierwiastkami z przeznaczeniem do zastosowań medycznych.

1.1. Ze względu na bardzo duże zainteresowanie firmy, z którą od wielu lat współpracuję, opracowaniem technologii wytwarzania antybakteryjnych powłok na ich wyroby medyczne, zamierzam kontynuować badania nad możliwością wprowadzania do matrycy węglowej jonów srebra. Powłoki te będą miały za zadanie pełnić skuteczną funkcję ochronną przy jednoczesnej zdolności kontrolowanego uwalniania jonów Ag w czasie. Wyzwaniem będzie tutaj opracowanie prostej, szybkiej metody uzyskiwania powłoki z równomiernie rozmieszczonymi jonami srebra, które w toku prowadzenia

procesów wytwórczych nie będą ulegały konglomeracji lub będzie to proces kontrolowany. Koniecznym będzie w tym zakresie przeprowadzenie dogłębnych analiz struktury uzyskiwanego materiału, badania uwalniania jonów w czasie w warunkach przyływu, badań biokteriobójczości i bakteriostatyczności dla szpitalnych szczepów antybiotykoopornych, badania cytotoksyczności i genotoksyczności. Pozytywne wyniki dadzą możliwość przejścia do analiz w modelu *in vivo*, a następnie klinicznych.

- 1.2. Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane dla domieszki w postaci pierwiastka Si oraz Ag, jak również możliwości technologiczne w parku urządzeń współpracującej firmy produkującej wyroby medyczne, chcę podjąć również badania w zakresie połączenia natryskiwanych powłok hydroksyapatytowych oraz srebra, aby uzyskać powłoki o wzmożonej osteoindukcji z jednoczesnym efektem baktriobójczym.
- 1.3. Planuję również połączyć niektóre domieszki, aby stworzyć powierzchnie do wyspecyfikowanych zastosowań w ortopedii, kardiologii oraz chirurgii twarzowo-szczękowej.

2. Badania nad biodrukiem 3D pośrednim i bezpośrednim.

Prace w tym zakresie rozpoczęłam już dwa lata temu opiekując się moimi studentami działającymi w Kole Naukowym BioMedSpec, którzy realizowali projekt budowy drukarki 3D. Rozwijając ten bardzo nowy (w skali światowej) obszar badań w roku akademickim 2017/2018 podjęłam się poprowadzenia dwóch prac magisterskich dotyczących tematyki konstrukcji drukarki 3D do celów biodruku pośredniego i bezpośredniego oraz opracowania materiałów hydrożelowych stanowiących biotusz. Zamierzam kontynuować prace nad rozwojem zarówno samych urządzeń do biologicznych wydruków 3D, jak również materiałów pozwalających na uzyskiwanie optymalnych parametrów, nie tylko pod kątem zdolności ich przetłaczania przez ekstruder, ale również zapewnienia optymalnych warunków wzrostu komórek i tkanek w druku bezpośrednim.

W dalszej perspektywie zamierzam podjąć działania łączące oba wyżej wymienione obszary badań – związane z powłokami oraz biodrukiem.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych, dydaktycznych i organizacyjnych

Szczegółowy wykaz cytowanych poniżej osiągnięć naukowo-badawczych został umieszczony w załączniku nr 6 pt. „Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki”. Do tego załącznika odnoszą się wskazania w tekście zamieszone w kwadratowych nawiasach.

W grudniu 2007 roku otrzymałam tytuł doktora nauk technicznych w dziedzinie Inżynieria Materiałowa broniąc pracę pt. „Powłoki węglowe na jubilerskie tworzywa metaliczne”. W styczniu 2008 roku zostałam zatrudniona na stanowisku specjalisty w dziekanacie Wydziału Mechanicznego Politechniki Łódzkiej. Ze względu na moje doświadczenie w pracy związanej z projektami międzynarodowymi w ramach programów Unii Europejskiej (jako konsultant w Punkcie Kontaktowym ds. Programów Ramowych UE) i ich realizacji [II.J1] została mi powierzona również funkcja pełnomocnika dziekana ds. projektów międzynarodowych, którą pełniłam przez następnych 5 lat (do końca roku 2012). W tym czasie wspomagałam naukowców w zdobywaniu finansowania na projekty badawcze i z sukcesem pozyskałam dla Politechniki Łódzkiej finansowanie na projekty ogólnowydziałowe i ogólnouczelniane. Dwa najistotniejsze z nich, to projekt o charakterze szkoleniowo-dydaktycznym pt. „Podwyższanie kompetencji kadry akademickiej i umiejętności absolwentów w aspekcie nowoczesnych metod analizy, symulacji i optymalizacji w procesie projektowania i eksploatacji”, zrealizowany w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki [III.A6] oraz projekt inwestycyjny pt. „Fabryka inżynierów XXI wieku – budowa nowoczesnego obiektu dydaktyczno – laboratoryjnego Wydziału Mechanicznego Politechniki Łódzkiej”, zrealizowany w ramach Programu Operacyjnego Infrastruktura i Środowisko [III.A5]. W efekcie tego drugiego projektu powstał budynek, w którym obecnie pracuję, rozwinęłam swoje laboratoria [III.Q1, III.Q3], prowadzę badania i zajęcia dydaktyczne [III.I1].

W roku 2009 objęłam stanowisko adiunkta w Instytucie Inżynierii Materiałowej PŁ, gdzie zostałam zaangażowana w realizację dwóch międzynarodowych projektów badawczych finansowanych w ramach programu European Research Area Network (ERA-Net) [II.J4, II.J6]. Dotyczyły one tematyki nanoproszków węglowych oraz kompozytów węglowo–hydroksyapatytowych na podłożach metalicznych, stosowanych w medycynie. Pełniłam w nich funkcję wykonawcy zajmując się prowadzeniem badań w zakresie oceny fizykochemicznych właściwości materiałów węglowych pod kątem ustalenia możliwości ich medycznego zastosowania. W tym czasie (2009) wystąpiłam z sukcesem o finansowanie własnego projektu badawczego pt. „Warstwy węgiel-srebro” w ramach programu M-ERA-Net [II.J7]. Na potrzeby tego projektu utworzyłam międzynarodowe konsorcjum [III.E2], którym kierowałam w latach 2010-2013. Wyniki uzyskane w efekcie jego realizacji doprowadziły do uzyskania patentu na technologię wytwarzania nanokompozytowej warstwy węglowej domieszkowanej srebrem na powierzchniach metalicznych [I.B13]. W międzyczasie (2011) rozpoczęłam badania wpływu dodatków metalicznych na biologiczne właściwości wyrobów medycznych ze szczególnym uwzględnieniem dodatku Si. Prowadziłam je w ramach projektu finansowanego przez MNiSW – Fundusz Młodych Naukowców [II.J5]. Wyniki, które uzyskałam potwierdziły założenia oczekiwanych odpowiedzi biologicznych wywoływanych przez dodatek krzemu. Wykorzystałam to do dalszego rozwijania technologii wytwarzania powłok węglowych do zastosowań medycznych, współtworząc założenia (2011/2012) do badawczego projektu wdrożeniowego pt. „Nowe biokompatybilne warstwy Si-DLC na implanty kostne” [II.J9]. Sposób wytwarzania warstwy węglowej zawierającej

krzem na implantach medycznych, który został wykorzystany w projekcie, uzyskał ochronę patentową [I.B12], a ja koordynowałam w nim wszystkimi badaniami o charakterze odpowiedzi biologicznej (*in vitro*, *in vivo*, kliniczne) prowadzonymi w jednostkach konsorcjum PoŁMedIMP [III.E3]. W ramach tego projektu współuczestniczyłam również w budowie prototypu urządzenia do modyfikacji powierzchni warstwami Si-C, który w roku 2013 stanął w siedzibie firmy Medgal Sp. z o.o. [II.B2].

Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane w efekcie badań przeprowadzonych w projekcie CARSILA (skoncentrowany na domieszce Ag) [II.J7] oraz realizowanych w projekcie SiMED (weryfikujący działanie domieszki Si) [II.J9], w roku 2013 podjęłam badania uzupełniające i weryfikacyjne w ramach kolejnego kierowanego przeze mnie grantu pt. „Poprawa właściwości biologicznych oraz mechanicznych materiałów stosowanych na implanty medyczne poprzez funkcjonalizację ich powierzchni oraz opracowanie metodologii ich kompleksowych badań przedwdrożeniowych”. Był on finansowany przez MNiSW w ramach Funduszu Młodych Naukowców [II.J8], a jego wyniki potwierdziły możliwość i zasadność zastosowania różnych domieszek, w tym ich jednoczesnego wprowadzania do powłoki węglowej. Mając na uwadze te rezultaty, doświadczenie we współpracy z podmiotami gospodarczymi oraz wiedzę w zakresie komercjalizacji wyników badań przywiezioną ze Stanford University [III.L8] w ramach udziału (2012) w programie stażowo-szkoleniowym „Top 500 Innovators Science – Management – Commercialization”, realizowanym przez MNiSW oraz praktyk w firmie Nanometrics Incorporated [III.L9], wystąpiłam o dwa projekty badawcze. Pierwszy z nich, pt. „Powłoki węglowe domieszkowane Ag/Si do zastosowań biomedycznych” [II.J11], skupiony był na jednoczesnym wprowadzaniu srebra i krzemu do powłok węglowych. W efekcie jego realizacji (2014-2016) została opracowana nie tylko technologia, ale powstała również specjalna aparatura - urządzenie do jednoczesnego domieszkowania [II.B3]. Finansowanie na rzecz realizacji tego projektu uzyskałam w ramach programu M-ERA.Net (Materials Science and Engineering – European Research Area Network), a międzynarodowe konsorcjum CARLA-POLROM [III.E4] utworzyłam z dwóch jednostek badawczych i dwóch firm zajmujących się produkcją wyrobów medycznych – jedna implantów ortopedycznych, druga implantów stomatologicznych. Drugi projekt (2014-2017), pt. "MODified BIOmaterials – MEDicine future", finansowany w ramach Programu LIDER [II.J12], miał na celu poszerzenie zakresu domieszek, które mogą modyfikować właściwości powłok węglowych pod kątem ich medycznych aplikacji.

Kierując powyższymi projektami podejmowałam się jednocześnie realizacji badań jako wykonawca w innych grantach [II.J10, II.J13, II.J14], prowadząc prace w zakresie oceny właściwości fizykochemicznych materiałów i/lub wywoływanej przez nie odpowiedzi biologicznej. Łącznie, po uzyskaniu stopnia doktora (w latach 2008-2018), zrealizowałam 11 projektów naukowo-badawczych. W 5 z nich pełniłam funkcję kierownika i głównego wykonawcy (w tym w 2 międzynarodowych), a w 6 funkcję wykonawcy (w tym w 2 międzynarodowych).

Badania, realizowane przeze mnie w ramach prowadzonych projektów, uzupełniałam o bardziej szczegółowe analizy zjawisk zachodzących na skutek modyfikacji biomateriałów (np. celowe rozwijanie powierzchni), czy też prowadzenia procesów przygotowawczych wymaganych dla wyrobów medycznych (np. sterylizacja). Niektóre z nich zostały już opublikowane [II.E2 – II.E6], bądź znalazły się w opracowaniach zbiorowych [II.F1 – II.F11] i przeglądowych [II.E7, II.E8].

Za moją pracę naukową w latach 2010 – 2018 zostałam pięciokrotnie uhonorowana nagrodą J.M. Rektora Politechniki Łódzkiej za osiągnięcia naukowe [II.K1 – II.K3, II.K6, II.K7]. W roku 2016 otrzymałam nagrodę J.M. Rektora PŁ dla autorów wysoko ocenionych międzynarodowych projektów [II.K4], a w roku 2017 prestiżową Zespołową Nagrodę Badawczą SIMENSA za pracę pt. „Nowe biokompatybilne warstwy Si-DLC na implanty kostne – pionierskie wdrożenie przemysłowe” [II.K5].

Efekty prowadzonych badań prezentowałam nie tylko poprzez opracowania publikacyjne, raportowe, czy też na spotkaniach z członkami konsorcjum projektów, ale również podczas konferencji i sympozjów krajowych i międzynarodowych. Wyniki moich prac zostały pokazane na 37 wydarzeniach naukowych. W latach 2008-2018 wygłosiłam 22 referaty ustne (na zaproszenie i zgłoszone) na międzynarodowych i krajowych konferencjach z zakresu biocybernetyki i inżynierii biomedycznej oraz materiałowej [II.L1 – II.L22], 3 razy prezentowałam wyniki w formie plakatów [III.B1 – III.B3] a także brałam udział w przygotowaniu komunikatów, które były przedstawiane na kolejnych 12 konferencjach [III.B6 – III.B9, III.B12, III.B14 – III.B17, III.B21 – III.B23].

Aktywnie uczestniczyłam również w pracach na rzecz organizacji 13 krajowych i międzynarodowych konferencji i sympozjów oraz wydarzeń o charakterze naukowym, tj. warsztaty, szkoły letnie [III.C1 – III.C13]. Pełniłam funkcje wiceprzewodniczącej konferencji, członka i/lub sekretarza komitetu organizacyjnego, jak również rolę edytora dla publikacji pokonferencyjnych. W roku 2015 byłam edytorem pomocniczym w czasopismach z listy JCR, mianowicie: Diamond and Related Materials oraz Physica Status Solidi A Applications and Materials Science [III.G1, III.G2].

Z zakresie dyscyplin, w których prowadzę badania naukowe, należę do międzynarodowych i krajowych organizacji i towarzystw naukowych. Od 2003 r. jestem członkiem Polskiego Stowarzyszenia Biomateriałów, a w kadencji 2017-2019 pełnię w nim funkcję zastępcy prezesa [III.H1 – III.H3]. Od roku 2013 należę do Polskiego Towarzystwa Materiałoznawczego oraz FEMS (Federation of European Materials Societies) [III.H4 – III.H5]. Jestem również członkiem Stowarzyszenia Top500 Innovators [III.H6].

W obszarze posiadanej wiedzy i doświadczenia z zakresu inżynierii biomedycznej i materiałowej podejmuję się recenzji oryginalnych opracowań badawczych w czasopismach w listy JCR, takich jak: Applied Surface Science, Defence Technology, Measurement, Surface

and Coatings Technology, Diamond and Related Materials [III.P1 – III.P5]. Wykonuję również ekspertyzy na zlecenie firm [III.M2] i jestem autorem wdrożeń [II.B1, II.B4].

Wiedzę merytoryczną z zakresu prowadzonych przeze mnie badań naukowych, kompetencje z zakresu „Komercjalizacji innowacyjnych przedsięwzięć i nowych technologii” (ukończone w roku 2010 polsko-amerykańskie studia podyplomowe), prowadzenia działalności B+R (ukończone w roku 2013 studia podyplomowe na kierunku: Menedżer Badań Naukowych i Prac Rozwojowych), jak również doświadczenie nabyte podczas stażu na Uniwersytecie Stanforda (2012) oraz doświadczenie własne uzyskane w efekcie realizacji projektów wykorzystuję pracując w zespołach eksperckich i konkursowych [III.N1 – III.N6]. Oceniam m.in. potencjał wdrożeniowy i poziom innowacyjności prezentowanych rozwiązań, czy też realność ich zastosowania w praktyce medycznej.

Jestem również recenzentem projektów. W latach 2012-2018 wykonałam recenzje 21 projektów badawczych i wdrożeniowych na zlecenie m.in. Narodowego Centrum Badań i Rozwoju oraz MNiSW [III.O1 – III.O4]. Ponadto swoją wiedzą dzielę się prowadząc kursy, wykłady i szkolenia w ramach różnego rodzaju programów [III.A8 – II.A10] realizowanych przez Politechnikę Łódzką, Uniwersytet Łódzki, jak również inne uczelnie w Polsce [III.I4, III.I5]. Poprzez współpracę z Uniwersytetem Medycznym w Łodzi realizuję działania na rzecz jednej z największych na świecie inicjatyw wspierających innowacje na rzecz zdrowia i aktywnego starzenia – EIT Health [III.E8].

Przez 8 lat mojej pracy badawczej zajmowałam się cienkimi powłokami domieszkowanymi różnymi pierwiastkami mającymi za zadanie ich ukierunkowaną funkcjonalizację tak, aby stanowiły biokompatybilne materiały do zastosowań w medycynie. Od ponad dwóch lat moje zainteresowania naukowe obejmują również tematykę druku 3D, w szczególności biodruku i rozwoju technik przyrostowych do zastosowań medycznych. W roku 2017 byłam współtwórcą Laboratorium Druku 3D na Wydziale Mechanicznym PŁ [III.Q4]. W roku 2018 podjęłam się promotorstwa dwóch prac magisterskich obejmujących ten zakres tematyczny. Jedna z nich zdobyła I miejsce w XXXIII Konkursie na najlepszą pracę dyplomową w Politechnice Łódzkiej, organizowanym przez Łódzką Radę Federacji Stowarzyszeń Naukowo-Technicznych NOT (FSNT-NOT) w Łodzi [III.J8]. W 2018 roku w tematyce biodruku 3D objęłam opieką naukową dwa doktoraty [III.K3, III.K4], podjęłam się promotorstwa pracy inżynierskiej, złożyłam wniosek o finansowanie projektu badawczo – wdrożeniowego w konsorcjum z firmą (w trakcie oceny), wygłosiłam referat na międzynarodowej konferencji [II.L22] i otrzymałam stypendium naukowe Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej na realizację projektu ”3D Printing of Biodegradable Metallic Scaffolds for Limb Lengthening” w Penn State University, the Huck Institutes of the Life Sciences (USA) (2019/2020). W kierunku tych badań chcę dalej rozwijać stworzone przeze mnie w 2016 roku Laboratorium badań odpowiedzi biologicznych i biodruku [III.Q3].

W swojej pracy dydaktycznej skupiam się na dwóch obszarach kształcenia:

- 1) ściśle związany z inżynierią biomedyczną – w tym zakresie jestem kierownikiem i prowadzę zajęcia wykładowe, laboratoryjne i projektowe w języku polskim i angielskim z przedmiotów: Biomaterials 1, Biomaterials 2, Biomateriały I, Inżynieria biomateriałów, Wytwarzanie i komercjalizacja wyrobów medycznych, Certyfikacja wyrobów medycznych [III.I1.1-6];
- 2) związany z rozwijaniem umiejętności opracowywania rozwiązań zorientowanych na aspekty praktyczne i użytkownika końcowego (w większości przypadków odnoszące się do tematów medycznych) – w tym zakresie jestem kierownikiem i prowadzę zajęcia wykładowe, ćwiczeniowe i projektowe w języku polskim i angielskim z przedmiotów: Design Thinking, Grupowy projekt innowacyjny – Design Thinking i PBL, semestralne projekty PBL dla studentów Centrum Kształcenia Międzynarodowego PŁ [III.I1.7-10].

W zakresie ww. pierwszego obszaru w roku 2014 brałam udział w pracach zespołu opracowującego program nowotworzonego kierunku „Inżynieria Biomedyczna” dla międzywydziałowych studiów II stopnia (Wydział Mechaniczny i Wydział Elektrotechniki, Elektroniki i Automatyki) w języku polskim. Do roku 2018 byłam członkiem Komisji Dydaktycznej dla kierunku Inżynieria Biomedyczna. Od 2014 roku jestem opiekunem merytorycznym Studenckiego Koła Naukowego Inżynierii Biomedycznej o nazwie BioMed-Spec [III.J2], które zrzesza Studentów z kilku wydziałów PŁ. W roku 2011 na zamówienie wydawnictwa Galaktyka Sp. z o.o. wykonałam przekład z języka angielskiego rozdziału 1 oraz 10 książki pt.: „Inżynieria materiałowa” Tom1, M.Ashby, H.Shercliff, D.Cebon (tytuł oryginału: „Materials engineering, science, processing and design” 2nd Edition), ISBN: 978-83-7579-191-4 [III.I3]. W latach 2011-2018 opiekowałam się ośmioma pracami inżynierskimi (w tym 7 w języku angielskim) i czterema magisterskimi (w tym 2 w języku angielskim) w charakterze „kierującego pracą” [III.J1, III.J3, III.J4, III.J6]. Dwie z prowadzonych przeze mnie prac magisterskich otrzymały nagrody [III.J5, III.J8]. Jestem również promotorem pomocniczym w dwóch przewodach doktorskich, których zakończenie planowane jest w IV i IX 2019 r. [III.K1 – III.K2].

W ramach popularyzacji nauki i zagadnień związanych z prowadzonymi przeze mnie badaniami w roku 2014, na specjalne zaproszenie NCBiR, reprezentowałam Polskę podczas konferencji pt. „Science. Polish Perspectives” na Oxford University [III.Q2]. Kilkukrotnie byłam gościem audycji radiowych promujących działalność badawczą Instytutu Inżynierii Materiałowej oraz edukacyjną i naukową Politechniki Łódzkiej. W 2017 roku wzięłam udział w cyklu pt. Nauka Movi(e), a w r.ak. 2017/2018 przyjąłam zaproszenie do udziału w popularnonaukowych nagraniach pt. „Wiedzą, co mówią”, realizowanych przez Politechnikę Łódzką. W ramach tego programu wystąpiłam w 4 odcinkach oraz napisałam 3 artykuły w prostych słowach i lekkiej formule prezentujące zagadnienia naukowe [III.I12]. Ponadto aktywnie uczestniczę w corocznych działaniach podejmowanych przez Łódzki

Uniwersytet Dziecięcy, kilkakrotnie wspierałam akcję Dziewczyny na Politechniki [III.J12, III.B13]].

Mój pobyt na Uniwersytecie Stanforda i zajęcia w d.school (Hasso Plattner Institute of Design at Stanford), które uznaje się za miejsce powstania metodologii Design Thinking (DT), zainspirowały mnie do dążenia, aby w PŁ wprowadzić zajęcia z DT i prowadzić kształcenie stosując DT. Po powrocie ze stażu (2012 rok) rozpoczęłam prace nad kartami przedmiotów i opracowaniem planów wprowadzenia ich do siatek kształcenia. W roku 2013 stworzyłam w PŁ pracownię interdyscyplinarnych pomysłów o potencjale wdrożeniowym i Zespół DT4U [III.Q1]. W r.ak. 2014/2015 przygotowany przeze mnie przedmiot „Design Thinking” został wprowadzony jako przedmiot obowiązkowy na 1 semestrze studiów pierwszego stopnia na kierunku Inżynieria Materiałowa, a rok później na studiach II stopnia kierunku Inżynieria Biomedyczna. Oba przedmioty od początku prowadzę, rozwijam i jestem w nich kierownikiem [III.I1.7-8]. W r.ak. 2016/2017 opracowałam i rozpoczęłam prowadzenie przedmiotu „Kreatywne projektowanie w mediach” w Państwowej Wyższej Szkole Filmowej, Telewizyjnej i Teatralnej im. Leona Schillera w Łodzi [III.I8].

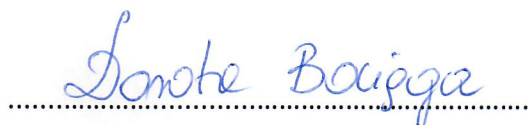
W roku 2015, wraz z zespołem, zaaplikowałam o projekt pt. „Development of Innovative Academy ON the basis of DT teaching”, akronim DiamondDT, w ramach programu Erasmus+, Akcja II – Partnerstwa strategiczne [III.F1]. Na rzecz jego realizacji stworzyliśmy międzynarodowe konsorcjum złożone z 4 jednostek uniwersyteckich z trzech krajów europejskich [II.E5]. Projektem kierowałam w latach 2015-2017. W efekcie jego realizacji powstały opracowania książkowe o charakterze dydaktycznym, których jestem współautorem i współdytorem, mianowicie: „Design Thinking Textbook”, „Design Thinking Toolbox” (obie w czterech wersjach językowych: polskim, angielskim, hiszpańskim, norweskim) oraz książka dobrych praktyk w języku angielskim pt. „Design Thinking Handbook”. Materiały te mają licencję otwartą i są ogólnodostępne na platformie Komisji Europejskiej [III.I7]. Projekt otrzymał odznakę „Good practice” przyznaną przez Fundację Rozwoju Systemu Edukacji (FRSE) i Komisję Europejską projektom wyjątkowo dobrze zarządzanym, które mogą być źródłem inspiracji dla innych [III.D5]. Wyniki projektu, jak również same aspekty edukacyjne związane ze stosowaniem metod projektowych w kształceniu, referowałam na 6 konferencjach krajowych i międzynarodowych [III.B5, III.B10, III.B11, III.B18 – III.B.20]. W roku 2016 wraz z moim Zespołem DT4U zdobyłam 1. miejsce w kategorii Edukacja w konkursie Polishopa Honeycomb organizowanym w ramach międzynarodowej konferencji Polishopa2016 poświęconej metodyce Design Thinking [III.D4]. W roku 2018 projekt DiamondDT otrzymał nominację (jako jeden z 5 najlepszych projektów z Polski) do nagrody EDUinspiracje 2018 w konkursie organizowanym przez Narodową Agencję Programu Erasmus⁺ [III.D6].

W zakresie mojej działalności dydaktycznej dotyczącej rozwijania innowacyjnych metod kształcenia współpracowałam w ramach międzynarodowego konsorcjum ECIU – The European Consortium of Innovative Universities, którego aktywnym członkiem

Politechnika Łódzka była do roku 2017 [III.E6]. Obecnie działam w konsorcjum EIT Health [III.E8] oraz sieci BUP – The Baltic University Programme [III.E9], realizując na ich rzecz i/lub wspólne z nimi międzynarodowe projekty (InnoDiaCare, Shape U Up, EIT Health RIS, EduBUP).

Poza projektem DiamonDT, w latach 2012-2018 uczestniczyłam w 8 projektach krajowych [III.A11, III.A13, III.A15 – III.A18, III.I10, III.I11] oraz 5 międzynarodowych [III.A14, III.E8, III.E9] realizowanych w ramach programów POKL, POWER, Erasmus+, EIT Health, BUP Teachers Course, Budżet Zadaniowy PŁ. Dzieliłam się w nich wiedzą i doświadczeniem prowadząc projekty, warsztaty, szkolenia, wykłady zarówno dla studentów, absolwentów, jak i nauczycieli akademickich. Od roku 2018 jestem również koordynatorem merytorycznym zadania „Nowoczesne kompetencje dydaktyczne” skierowanego do kadry akademickiej PŁ w ramach Projektu POWER (2018-2022) [III.A19].

Za całokształt mojej działalności w zakresie edukacji w roku 2018 otrzymałam nominację do nagrody EDUInspirator 2018, przyznaną mi w konkursie organizowanym przez Fundację Rozwoju Systemu Edukacji, Narodową Agencję Programu Erasmus⁺ [III.D8].



Podpis Wnioskodawcy