

Dr hab. n. med. Piotr Wilczek prof. IPS

Fundacja Rozwoju Kardiochirurgii im. Prof. Zbigniewa Religi

W Zabrze

## **RECENZJA**

Rozprawa doktorska

mgr Aneta Dyner

pt.: „Funkcjonalizacja powierzchni stali 316LVM pod kątem uwarunkowań i oddziaływania z układem sercowo-naczyniowym”

Przedstawiona mi do recenzji praca porusza ważną i aktualną problematykę chorób układu sercowo – naczyniowego (CVD), w aspekcie poszukiwania skutecznych metod wspierających leczenie, w sytuacji, kiedy konieczne staje się przywrócenie drożności zwężonego naczynia poprzez wykonanie zabiegu angioplastyki wieńcowej. Tego rodzaju leczenie wymaga użycia implantów naczyniowych, takich jak protezy naczyń krwionośnych, stenty i stent-grafty. Zagadnienia poruszane w przedstawionej mi do recenzji pracy są niezwykle istotne, jeżeli weźmiemy pod uwagę, że choroby układu sercowo – naczyniowego stanowią główną przyczynę zgonów zarówno w Polsce jak i na świecie. Wśród tego rodzaju chorób dominują schorzenia układu naczyniowego oraz wrodzone i nabyte wady serca. Jednym z bardziej istotnych problemów z punktu widzenia klinicznego są incydenty niedokrwienne których konsekwencją jest zawał mięśnia sercowego lub udary niedokrwienne mózgu. Przyczyną tych zdarzeń jest ograniczona lub całkowita niedrożność naczyń krwionośnych, doprowadzających krew do narządów krytycznych. Biorąc pod uwagę istotność problemu zarówno ze względów społecznych jak i klinicznych, nieustannie wdrażane są programy profilaktyczne, rozwijane są metody z zakresu kardiochirurgii i kardiologii inwazyjnej. Nie zmienia to jednak faktu, że choroby układu sercowo naczyniowego są główną przyczyną śmiertelności, odsetek zgonów z powodu CVD wciąż przekracza 30% wszystkich zgonów na świecie, a wśród nich ponad 80% stanowią zgony spowodowane zawałem mięśnia sercowego lub udarem mózgu. W związku z powyższym dużą uwagę przykładana się do rozwoju metod poprawiających efektywność leczenia tego rodzaju schorzeń i rozwoju narzędzi, które mogłyby być skutecznie wykorzystane w obszarze kardiologii interwencyjnej. Dotyczy to w szczególności technologii wytwarzania stentów naczyniowych które wykazywałyby pożądane właściwości mechaniczne, materiałowe, posiadały wysoką biogodność. Dużą uwagę przykładana się również do metod funkcjonalizacji powierzchni, które umożliwiałyby selektywne oraz kontrolowane uwalnianie czynników biologicznie aktywnych. Powyższe dane te niewątpliwie wskazują, że przedstawiono mi do recenzji praca ma bardzo istotne znaczenie, ponieważ poszerza wiedzę na temat współczesnych metod

funkcjonalizacji powierzchni materiałów wykorzystywanych w kardiologii interwencyjnej, oraz ma bardzo istotne walory praktyczne co stanowi niewątpliwie o dużej wartości przedstawionej mi do recenzji pracy. Autorka Pani mgr Aneta Dynier podjęła udaną próbę kompleksowego opisu zagadnień dotyczących metod funkcjonalizacji powierzchni pod kątem uwarunkowań i oddziaływania z układem sercowo – naczyniowym i w oparciu o tą wiedzę zaplanowania w sposób właściwy wielkoskalowych badań obejmujących zarówno oceną właściwości fizyko – chemicznych i biologicznych materiału. Należy również podkreślić, że autorka w prowadzonych badaniach wykorzystwała również doświadczenia własne dotyczące oceny wyrobów medycznych. Tak kompleksowe podejście stanowi niewątpliwie osiągnięcie autorki.

Przedstawiona mi do oceny monografia liczy łącznie 110 stron. Tworzą ją następujące części: wprowadzenie, przegląd piśmiennictwa, w którym w poszczególnych podrozdziałach omówiono problematykę chorób sercowo – naczyniowych, charakterystykę implantów stosowanych w obszarze kardiologii interwencyjnej, zagadnienia dotyczące modyfikacji powierzchni implantów oraz aktualny stan wiedzy w zakresie modyfikacji powierzchni stali nierdzewnej dedykowanej dla stentów naczyniowych. W kolejnym rozdziale dokonano syntetycznego podsumowania przeglądu piśmiennictwa, jest to bardzo pomocne biorąc pod uwagę wieloskalowość problematyki będącej przedmiotem dysertacji. W kolejnym rozdziale przedstawiono badania własne, układ tego rozdziału jest bardzo czytelny, pozwala na prześledzenie przyjętej metodyki badawczej. Wskazuje jednocześnie na dużą znajomość problematyki dotyczącej badań materiałów o potencjalnym zastosowaniu w aplikacjach medycznych. W kolejnym rozdziale omówione zostały wyniki badań, rozdział ten ma charakter dyskusyjny, w którym autorka Pani mgr Aneta Dynier, przedstawia interpretację uzyskanych wyników, rozdział ten stanowi potwierdzenie, że autorka nie tylko opanowała warsztat badawczy właściwy dla omawianego zagadnienia, ale potrafi również w sposób krytyczny dokonać analizy uzyskanych wyników. Rozdział ten wskazuje również na umiejętność interpretacji uzyskanych wyników badań. Kończącą część rozprawy stanowi bibliografia obejmująca aż 117 pozycje literaturowych. Bibliografia została właściwie i w sposób wyczerpujący dobrana i cytowana. Przedstawiona mi do recenzji dysertacja posiada liczne, bo ryciny oraz tabele. Zarówno zamieszczone ryciny jak i tabele w znacznym stopniu ułatwiają zrozumienie uzyskanych wyników oraz zrozumienie przyjętej metody badawczej. W końcowej części umieszczono również streszczenie w języku polskim i angielskim. Układ pracy jest przejrzysty i czytelny, a proporcje poszczególnych rozdziałów zostały zachowane. Poszczególne rozdziały są podzielone w logiczny sposób na podrozdziały wyodrębniające się ze względu na problem szczegółowy lub metodykę badań. Pozwala to śledzić przyjęty przez autorkę kierunek prowadzonych prac.

Pracę rozpoczyna krótkie wprowadzenie, w którym autorka w sposób przejrzysty i wystarczający przedstawia podstawowe zagadnienia dotyczące problematyki chorób sercowo – naczyniowych oraz metod stosowanych w leczeniu tych chorób ze szczególnym uwzględnieniem metod pozwalających na przywrócenie drożności naczyń krwionośnych z zastosowaniem implantów naczyniowych takich jak protezy naczyń krwionośnych, stenty i

stent-grafty. Stanowi on jednocześnie uzasadnienie podjęcia tematyki w ramach rozprawy doktorskiej.

Dalszą część pracy stanowi przegląd aktualnego stanu wiedzy. Rozdział ten został podzielony na kilka podrozdziałów. Pierwszy z nich opisuje podstawy kliniczne związane z chorobami układu sercowo - naczyniowego, w kolejnym autorka w sposób wyczerpujący przedstawia, problematykę dotyczącą etiologii chorób CVD oraz aktualne metody leczenia. W kolejnym podrozdziale autorka Pani mgr Aneta Dyrer opisuje aktualny stan wiedzy dotyczący implantów stosowanych w leczeniu chorób układu krążenia. Kolejne podrozdziały koncentrują się nad zagadnieniami modyfikacji powierzchniowej implantów naczyniowych ze szczególnym uwzględnieniem modyfikacji powierzchni stali nierdzewnej stosowanej w konstrukcji stentów naczyniowych. Taki układ pracy jest bardzo pomocny dla pełnego zrozumienia poruszanej problematyki. Dużą zaletą tego rozdziału są zamieszczone ryciny, które pomagają w lepszym zrozumieniu opisywanych zagadnień. Obszerne wprowadzenie, w którym autorka opisuje zagadnienia kliniczne oraz modyfikacji powierzchniowej wskazują, że autorka bardzo dobrze porusza się w obszarze zagadnień o charakterze interdyscyplinarnym. Niewątpliwie wskazuje również na bardzo dobrą znajomość poruszanych zagadnień jaką wykazuje Pani mgr Aneta Dyrer. Dużą zaletą tego rozdziału jest również zamieszczone na końcu rozdział „Podsumowanie przeglądu piśmiennictwa” gdzie w syntetyczny sposób podsumowuje wszystkie wcześniej opisywane zagadnienia.

W kolejnym rozdziale „Cel, założenia i tezy pracy” autorka formułuje jeden cel główny, bazując przy tym na przeglądzie aktualnego stanu wiedzy. Oprócz celu głównego autorka podjęła przyjęła również szczegółowe tezy pracy. Dla osiągnięcia zarówno celu głównego jak tezy pracy autorka w tym rozdziale wskazała główne zadania przyjęte do realizacji. Formułując cele pracy, Pani mgr Aneta Dyrer oparła je o prawidłowo przyjęte założenia. Wskazuje, że głównym celem jest „Ocena wpływu właściwości fizykochemicznych powłok na bazie dwutlenku tytanu na procesy zachodzące na powierzchni implantów wykonanych ze stali nierdzewnej po ich wprowadzeniu do układu krwionośnego. Jednocześnie autorka wskazuje, że dla osiągnięcia celu istotne jest prawidłowe ukształtowanie struktury, własności mechanicznych materiału podłoża oraz morfologii, własności fizykochemicznych powłok adekwatnych do specyfiki układu krwionośnego. Na tej podstawie autorka Pani mgr Aneta Dyrer formułuje tezę, że zastosowanie metody ALD dla funkcjonalizacji powierzchni stali 316LVM powłoką  $TiO_2$  może zapewnić optymalną biokompatybilność implantów dedykowanych do długotrwałego kontaktu z krwią w warunkach *in vivo*. Takie podejście jest uzasadnione, ponieważ właściwa funkcjonalizacja powierzchni jest czynnikiem determinującym osiągnięcie zakładanych celów badania. Przyjęte do realizacji zadania takie jak: badanie właściwości chemicznych i fizycznych materiału, dobór procesów i warunków obróbki powierzchni, ocena własności fizyko – chemicznych dla wybranych wariantów i w końcowej części ocena właściwości biologicznych. Sposób realizacji celów pracy oraz poszczególnych zadań wskazuje również, że praca posiada istotny potencjał do tego, aby znaleźć zastosowanie praktyczne.

Kolejne rozdziały w sposób przejrzysty objaśnia szczegóły metodyczne pracy oraz sposób prowadzenia eksperymentów. Autorka Pani mgr Aneta Dyer przedstawia w sposób czytelny metodykę badań. Autorka w sposób szczegółowy przedstawia metodykę badania składu chemicznego warstwy powierzchniowej, badanie grubości warstw, własności elektrochemicznych, badania własności fizycznych w tym badania adhezji powłok do podłoża, zwilżalności powierzchni oraz badania topografii powierzchni. Istotne wydaje się, że w kolejnym etapie dokonano wyboru wariantu temperaturowego do dalszych badań, wybierając jednocześnie te czynniki które są najbardziej istotne dla poprawy właściwości powierzchni. Jest to czynnik, który istotnie wpływa na właściwości biologiczne materiału przeznaczonego do kontaktu z krwią, w związku z czym tego rodzaju podejście jest bardzo właściwe biorąc pod uwagę potencjalne zastosowanie w układzie sercowo -naczyniowym. Ostatnią część badań, które weryfikują przydatność zastosowanej metody funkcjonalizacji powierzchni do zastosowań w kardiologii interwencyjnej są badania własności biologicznych. Badania te obejmowały ocenę cytotoksyczności, badania proliferacji komórkowej, badania własności trombogennych, w tym przypadku zastosowano układ ImpactR, który umożliwia wykonanie badań w warunkach symulujących warunki fizjologiczne co jest niezwykle istotne. Wykonano również ocenę oddziaływania z układem czerwono krwinkowym. Wykonano również badania sekrecji cytokin. Badania biologiczne obejmowały wszystkie parametry krytyczne dla oddziaływania z układem sercowo – naczyniowym i mogą dzięki temu stanowić podstawę do wnioskowania o możliwości wykorzystania badanego materiału o funkcjonalizowanej powierzchni w układzie *in vivo*. Czytelność całego rozdziału zwiększają zamieszczone ryciny oraz zawarte w rozdziale tabele. Należy podkreślić, że taka konstrukcja prac badawczych świadczy o dobrej znajomości warsztatu metodologicznego, co stanowi jednocześnie gwarancję uzyskania poprawnych wyników, a co za tym idzie daje możliwość właściwego wnioskowania. W przedstawionej mi do recenzji monografii Pani mgr Aneta Dyer, zaprezentowano szeroki i w pełni satysfakcjonujący warsztat metodyczny. Wszystkie metody badawcze zostały właściwie dobrane, gwarantując rzetelność uzyskanych wyników.

Kolejną część pracy stanowi rozdział „Wyniki badań”. Rozdział ten w sposób syntetyczny omawia uzyskane wyniki. Analiza i dyskusja wyników wydaje się w tym przypadku o tyle trudna, że prowadzone przez Panią mgr Anetę Dyer badania miały charakter wieloskalowy, w związku z czym analiza wyników wymagała obszernej wiedzy zarówno dotyczącej analizy wyników badań fizyko – chemicznych jak i badań biologicznych. Autorka w bardzo dobry sposób poradziła sobie z interpretacją uzyskanych wyników. Wyniki badań zostały omówione przez autorkę w sposób zwięzły i wyczerpujący, a umieszczone w tekście tabele i ryciny są pomocne w analizie danych. Warto zaznaczyć, że zastosowany podział powoduje, że omówienie wyników jest przejrzyste i zachowuje logiczny ciąg myślowy. Ostatni rozdział „Omówienie wyników badań” ma charakter syntetycznej dyskusji. Sposób prowadzenia dyskusji wskazuje na bardzo dobrą znajomość autorki aktualnych zagadnień związanych z chorobami układu sercowo – naczyniowego oraz aktualną problematyką dotyczącą stentów naczyniowych i ograniczeń wynikających z zastosowania komercyjnie dostępnych protez naczyniowych. Autorka podkreśla, że uzyskane wyniki wskazują na potrzebę rozszerzenia badań, zwłaszcza w zakresie oddziaływania z komórkami śródbłonna, ponieważ tego rodzaju oddziaływania są krytyczne dla potencjalnej restenozy. Tego rodzaju interpretacja i dyskusja

wyników świadczą o dojrzałości naukowej Pani mgr Anety Dyner.

Pani mgr Aneta Dyner w części końcowej przedstawia aż dziesięć wniosków, które są dobrze udokumentowane rezultatami badań. Wnioski jakie prezentuje autorka w swojej monografii są adekwatne do założonych celów pracy jak również są spójne z otrzymanymi wynikami.

Na podkreślenia zasługuje bardzo szerokie piśmiennictwo prezentowane w rozprawie. Dobór piśmiennictwa jest prawidłowy i obejmuje najnowsze pozycje literaturowe dotyczące omawianego obszaru badań.

Uwagi:

1. W części „Cel, założenia i tezy pracy” w sposób precyzyjny określa cel główny pracy, wydaje się jednak wartościowym byłoby dodatkowe wyszczególnienie celów szczegółowych. Sprecyzowanie celów szczegółowych mogłoby być pomocne w analizie wyników oraz wniosków jakie zostały sformułowane w końcowej części monografii.
2. Badania biologiczne obejmowały między innymi analizę potencjału proliferacyjnego komórek modelowych, która została oparta o ocenę zmian w obrębie cytoszkieletu, tego rodzaju analiza ma bardziej charakter oceny jakościowej. Wartościowym byłoby poszerzenie badań o ocenę markerów proliferacji, co pozwoliłoby uzyskać dane ilościowe.
3. Praca zawiera liczne ryciny, tabele, przydatne byłoby umieszczenie w pracy spisu zamieszczony tabel i rycin.

Podsumowując chciałbym stwierdzić, że przedstawioną mi do recenzji monografię oceniam bardzo wysoko. Rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i może znaleźć również zastosowanie praktyczne. Przedstawione z obowiązku recenzenta drobne uwagi mają bardziej charakter sugestii i w niczym nie umniejszają wysokiej wartości recenzowanej rozprawy na stopień doktora nauk medycznych. Dlatego z pełnym przekonaniem uznaję, że rozprawa doktorska mgr Anety Dyner pt.: „Funkcjonalizacja powierzchni stali 316LVM pod kątem uwarunkowań i oddziaływania z układem sercowo-naczyniowym” spełnia wszelkie wymogi rozprawy na stopień doktora zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20.07. 2018r (prawo o szkolnictwie wyższym i nauce j.t. Dz. U. Z 2020 pozycja 85 z późniejszymi zmianami) Zwracam się, wobec tego do Wysokiej Rady Dyscypliny „Inżynieria Biomedyczna” o dopuszczenia Pani mgr Anety Dyner do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Zwracam się ponadto do Wysokiej Rady Dyscypliny „Inżynieria Biomedyczna” o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Anety Dyner ze względu na jej istotny walor poznawczy oraz praktyczny.

Dr hab. n. med. Piotr Wilczek prof. IPS

