



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

dr hab. Andrzej Kotarba
profesor nadzwyczajny

Wydział Chemii
ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków
tel. +48 (12) 663 22 46
e-mail: kotarba@chemia.uj.edu.pl

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Maksymow

p.t.: „**Modyfikacja powierzchni biomateriałów przeznaczonych
do terapii układu krążenia**”

wykonanej w Instytucie Metalurgii i Inżynierii Materiałowej

Polskiej Akademii Nauk

promotor pracy: **Prof. dr hab. inż. Bogusław Major**

promotor pomocniczy: **Dr inż. Roman Major**

Dynamiczny rozwój cywilizacyjny postępujący we współczesnym świecie implikuje fundamentalne zmiany w stylu życia obecnych i przyszłych pokoleń. Konsekwencją, wynikającą głównie ze zmiany diety żywieniowej, niskiej aktywności fizycznej, zanieczyszczenia środowiska są choroby cywilizacyjne. Podczas gdy w krajach rozwijających się sporym problemem są wciąż choroby zakaźne, a wysoka śmiertelność związana jest ze złymi warunkami sanitarnymi i brakiem opieki medycznej, w krajach rozwiniętych na czołowe miejsce w statystyce zgonów wysuwają się choroby układu naczyniowo-sercowego. I tak na przykład, w Polsce choroba niedokrwienna serca dotyczy obecnie blisko miliona mieszkańców.

Bez wątpienia jednym z najważniejszych osiągnięć ostatnich lat w dziedzinie kardiologii zabiegowej było wprowadzenie wewnątrznaczyniowych implantów, nazywanych stentami. Jednakże, stosowane obecnie materiały implantacyjne nie zapewniają stu procentowej skuteczności leczenia, a najpoważniejszym problemem pozostaje nawrót zwężenia naczynia tzw. restenoza.

Dlatego też w licznych ośrodkach badawczych na całym świecie prowadzone są ekstensywne i intensywne badania nad opracowaniem biomateriałów dedykowanych do kontaktu z krwią. Powierzchnie takich materiałów muszą wykazywać szereg specyficznych właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych, i co niezwykle istotne właściwości te muszą być stabilne w warunkach panujących w organizmie pacjenta po implantacji. Konsekwencją surowych kryteriów stawianych tego typu biomateriałom jest konieczność prowadzenia interdyscyplinarnych badań z zastosowaniem szerokiej gamy różnorodnych metod eksperymentalnych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Maksymow, zrealizowana w Pracowni Inżynierii Powierzchni i Biomateriałów, kierowanej przez Prof. Bogusława Majora, wpisuje się bezpośrednio w ten nurt badawczy zarówno w kraju, jak i na świecie. Praca ukierunkowana jest na zagadnienia praktyczne – modyfikacja powierzchni polichloroku winylu za pomocą różnych powłok o właściwościach atombogennych (wytwarzanych z wykorzystaniem takich pierwiastków jak: węgiel, tytan i krzem), ich kompleksowa charakterystyka fizykochemiczna oraz ocena właściwości biomedycznych wytworzonych materiałów.

Praca zawiera 114 ponumerowanych stron i jest zredagowana w przejrzystym układzie klasycznym. Po wstępie (rozd. 1) i wprowadzającym w tematykę rozprawy rozdziale literaturowym (rozd. 2), następuje sformułowanie tezy i celu pracy doktorskiej (rozd. 3). W rozdziale poświęconym pracom eksperymentalnym opisano metody wytwarzania materiałów oraz aparaturę i metody zastosowane do ich charakterystyki (rozd. 4). W największym rozdziale pracy następuje prezentacja uzyskanych wyników wraz z ich wstępną interpretacją (rozd. 5). W rozdziale 6 znajduje się sześciostronicowe podsumowanie, po którym następuje rozdział zawierający wypunktowane wnioski końcowe (rozd. 7). Pracę kończy spis odnośników literaturowych zawierający 183 pozycji (Bibliografia).

Literaturowa część pracy została opracowana zwięźle i poprawnie. Autorka dokonała selekcji informacji niezbędnych do zrozumienia kontekstu oraz istoty przeprowadzonych w pracy badań, opisując najistotniejsze zagadnienia związane z biokompatybilnością materiałów, właściwościami krwi oraz oddziaływaniami

i procesami zachodzącymi na granicy faz: krew-powierzchnia biomateriału. Szczególną uwagę zwróciła Autorka na różne strategie i metody wykorzystywane we współczesnej inżynierii powierzchni materiałów hemokompatybilnych. W tej części pracy Autorka umiejętnie łączy wiedzę z zakresu chemii i fizyki materiałów, inżynierii materiałowej (zwilżalność, energia powierzchniowa, wiązania chemiczne, potencjał zeta, teoria pasmowa, implantacja jonowa, ablacja laserowa itp.) z typową wiedzą biologiczną (aktywacja komórek, ich różnicowanie, migracja, adhezja, macierz zewnątrzkomórkowa, wzrost tkanki itp.). W tym miejscu chciałbym podkreślić, że w mojej opinii właśnie ta interdyscyplinarność stanowi największy walor pracy. Część literaturową pracy kończy rozdział 3, w którym Autorka sformułowała następującą tezę pracy doktorskiej *„Modyfikacja powierzchni materiałów stosowanych w terapii układu krążenia za pomocą powłok na bazie węgla, tytanu, bądź krzemu prowadzi do poprawy ich właściwości antytrombogennych”*. Autorka podaje też szczegółowe cele operacyjne (preparatyka powierzchni, charakterystyka, ocena właściwości), które pozwolą na weryfikację postawionej tezy. Cele te tworzą spójną logiczną całość wskazując jednocześnie na metodykę realizacji pracy. Jednakże, z obowiązku recenzenta muszę wskazać, że pierwszy z podanych celi został niezbyt fortunnie sformułowany *„zmodyfikowanie materiałów ... przeznaczonych do terapii układu krążenia za pomocą cienkich warstw...”*.

W rozdziale 4 znajduje się opis badanych materiałów (metody preparatyki i modyfikacji), zastosowanej aparatury, metod i procedur eksperymentalnych. Uwagę zwraca szeroki warsztat badawczy wykorzystany w pracy do charakterystyki i oceny biogodności badanych powierzchni: metody mikroskopowe: AFM, SEM, TEM, CM; metody spektroskopowe: EDX, XPS; pomiary kąta zwilżania, testy mechaniczne, metody znakowania barwnikami fluorescencyjnymi w diagnostyce komórkowej, testy właściwości biomedycznych w trybach statycznym i dynamicznym. Przy opisie poszczególnych technik badawczych zwróciła moją uwagę spora dysproporcja. Na przykład, transmisyjnej mikroskopii elektronowej poświęcono 2 zdania (str. 45), podczas gdy mikroskopii konfokalnej 2 strony (str. 49-51).

W rozdziale 5 Autorka przechodzi do prezentacji i opisu własnych wyników eksperymentalnych.

Wyniki są stosunkowo dobrze udokumentowane, ich prezentacja jest jasna, szata graficzna rysunków i wykresów poprawna. Interpretacja wyników wydaje się być logiczna, a ich dyskusja, w większości opisowo-porównawcza jest spójna. Pewien niedosyt może wywoływać tutaj brak wniknięcia w naturę badanych powłok oraz pogłębionej interpretacji i dyskusji (skład chemiczny, skład fazowy, jednorodność). Autorka koncentruje się głównie na właściwościach funkcjonalnych powłok, takich jak adhezja, wady powierzchniowe, chropowatość, aktywacja płytek krwi, ilość agregatów itp. Tabele podsumowujące otrzymane wyniki (str. 94) mają charakter jakościowy, jednakże wskazują, które z badanych materiałów Autorka selekcjonuje do dalszych „*bardziej zaawansowanych badań klinicznych*”.

Do najciekawszych wyników i osiągnięć pracy zaliczam:

1. wykonanie testów przesiewowych dla serii powłok na bazie węgla, krzemu i tytanu, przygotowanych z wykorzystaniem nowoczesnych technik: magnetronowej i jarzeniowej,
2. wykazanie iż chropowatość powierzchni w skali nanometrycznej w nieznacznym stopniu powoduje uszkodzenie erytrocytów w warunkach przepływu krwi,
3. wykazanie iż metoda polimeryzacji w warunkach wyładowania jarzeniowego umożliwia wytworzenie powłok w naczyniach o kształcie rurowym, a poprzez dobór parametrów procesu można poprawiać adhezję powłoki do podłoża oraz ich hemokompatybilność,
4. wykazanie iż modyfikacja powierzchni biomateriałów w skali mikrometrycznej z wykorzystaniem techniki impulsów laserowych może być wykorzystana do ograniczenia migracji komórek śródbłonka.

W pracy natrafiłem na kilka drobnych błędów, skrótów myślowych, nieścisłości i literówek, jednakże nie przesłaniają one zasadniczych kwestii merytorycznych. Intencją recenzenta nie jest wyliczanie ich wszystkich, jednakże nie chcąc być gołosłownym poniżej podaję kilka przykładów:

Str. 5 „*textitbiokompatybilność*”

Str. 8 „*Krwinki czerwone ... transportują gazy we krwi...*”

Str. 22 „*powierzchnia cząsteczki*”

Str. 23 „*...naturalnymi związkami naturalnymi...*”

Str. 35, 37 „*giudance*”, „*marfologia*”,

Str. 38 ponad 6-cio linikowy akapit zaczynający się od „*Zachowanie równego rodzaju komórek...*” stanowi jedno, trudne do zrozumienia zdanie.

Str. 43 „*...metastabilnych frakcji molekuł, ...*”,

Str. 46 „*...działo jonowe typu Dual Beam*” ,

Str. 48 „*w oparciu o specjalistyczną literaturę*” - brak odnośników.

Str. 51 „*Komórki śródbłonna... posłużyły w celu obserwacji ich zachowania na podłożach...*”

Str. 55 niepewność wyznaczania wartości progowej naprężenia podano w mm

Str. 58 „*... obrazy wielkości 50x50 μm oraz 10x10 μm zmierzone za pomocą mikroskopu...*”

Str. 86 „*Rocwell'a*” powinno być Rockwella,

Str. 93 „*...amorficznej warstwy polimerowej, złożonej z atomów gazu oraz prekursora znajdującego się komorze reakcyjnej.*”

Uwagi dotyczące rysunków:

Rys. 4.3 – niewłaściwy opis osi rzędnych i brak rozróżnienia krzywych spektralnych,

Rys. 5.2 - różna skala osi z utrudnieniem porównanie topografii otrzymanych powierzchni,

Rys. 5.37 w podpisie: „... powłoki, wykonane za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego.”

Zauważone niedociągnięcia i elementy problematyczne, które chciałbym przedyskutować z Autorką w trakcie obrony:

1. Jak wytłumaczyć brak zależności pomiędzy kątem zwilżania (z wyjątkiem punktu dla powłoki SiDLC) i energią powierzchni badanych materiałów (rys. 5.20 na str. 72)?
2. W Tabeli 5.2 (str. 64) podano skład chemiczny warstwy Ti(C,N) wyznaczony metodą EDS. Wynika z niego, że w stechiometrii warstwy występuje duży niedobór tytanu. Jaki jest zatem w opinii Autorki skład fazowy wytworzonej warstwy? W podpisie pod rys. 5.10 przywołana jest analiza fazowa, przeprowadzona na podstawie dyfrakcji elektronów, ale w pracy nie znalazłem jej opisu ani dyskusji.
3. W Tabeli 5.4 (str. 83) wartości energii wiązania elektronów O 1s oraz Si 2p znacznie różnią się dla poszczególnych preparatów: zakres dla tlenu 531,7 – 532,4 eV, dla krzemu 101,0 – 102,6 eV. Jak zinterpretować na tej podstawie stan chemiczny tych składników w badanych materiałach?

Przedstawione zagadnienia dyskusyjne oraz drobne niedociągnięcia nie mają istotnego wpływu na moją całościową pozytywną ocenę pracy. Wnosi ona nowe elementy do wiedzy na temat inżynierii powierzchni materiałów implantacyjnych, a w szczególności powłok otrzymywanych metodą magnetronową i jarzeniową.

Mgr inż. Katarzyna Maksymow wykazała się umiejętnościami wykorzystania w badaniach metod służących do preparatyki, modyfikacji oraz charakterystyki biomateriałów oraz oceny ich właściwości biomedycznych. Pokazała również umiejętności prezentacji, opracowywania i dyskusji otrzymanych wyników. Niewątpliwym atutem pracy jest jej interesująca i aktualna tematyka oraz szeroko pojęta interdyscyplinarność. Podkreślić należy, że choć w pracy nie znajdziemy rozwijania nowych naukowych teorii czy modeli to zaproponowane w niej podejście fenomenologiczne broni się poprzez wysoki poziom aplikacyjności przeprowadzonych badań. Otrzymane wyniki mogą bowiem w dalszej perspektywie mieć bezpośredni wpływ na projektowanie i wytwarzanie powierzchni biomateriałów, a w konsekwencji przyczynić się do poprawy jakości życia pacjentów, czyli potencjalnie każdego z nas.

W podsumowaniu stwierdzam, że mgr inż. Katarzyna Maksymow przedstawiła ciekawą rozprawę doktorską, zawierającą interesujące wyniki z elementami nowości naukowej. W mojej opinii, przedstawiona do recenzji praca spełnia wymagania, zarówno formalne, jak i zwyczajowe, stawiane pracom doktorskim przez ustawę z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (D.U.R.P., nr 65, poz. 595, roz. 3, art. 26). Wnoszę więc do Rady Instytutu Metalurgii i Inżynierii Materiałowej Polskiej Akademii Nauk o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie jej Autorki do publicznej obrony.

A. Kobierka