

## **RECENZJA**

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Gabrieli IMBIR**

**pt.**

**„Biomechanical and morphological effect on the acellular animals origin tissue caused by the surface functionalization”**

### **Zasadność podjęcia tematu rozprawy doktorskiej i jej zakres**

Wady zastawkowe serca są częstym i trudnym problemem w kardiologii, a jedynym skutecznym leczeniem zaawansowanych zmian jest kardiochirurgiczna wymiana zastawki. Wyzwaniem współczesnej inżynierii materiałowej i biomedycznej jest opracowanie trwałych protez zastawkowych, ograniczających ryzyko powikłań i konieczność szybkiej reoperacji. Uszkodzona zastawka serca może być zastąpiona poprzez zastosowanie różnych typów biologicznego lub mechanicznego transplantu. Obydwa te rozwiązania mają wiele wad, z których najważniejsze to biodegradacja, zwapnienia, reakcje zapalne i immunologiczne, czy podatność na zakażenia, co ogranicza trwałość przeszczepu. Na ogół wymagana jest też konieczność długotrwałego leczenia przeciwzakrzepowego.

Nowe sposoby przygotowania tkanek do przeszczepu polegają na rozwoju autogenego materiału tkankowego, np. biologicznych zastawek uzyskanych za pomocą inżynierii tkankowej, w którym szkielet stanowi bezkomórkowa biodegradowalna macierz o pochodzeniu ksenogennym zasiedlana własnymi somatycznymi komórkami pacjenta. Zakłada się, że taki przeszczep powinien być wolny od powikłań obserwowanych przy użyciu aktualnie stosowanych protez.

Postęp w inżynierii materiałowej i jej powiązanie z inżynierią tkankową generuje obiecujące narzędzia dla stworzenia nowego rodzaju protezy zastawki. Nowa terapia polegająca na wysianiu komórek autogenych pacjenta na rusztowaniu tkankowym o pochodzeniu zwierzęcym daje potencjał wzrostu, samo-naprawy i przebudowy podobny do rodzimej tkanki gospodarza. Bezkomórkową macierz można stosować jako podłoże do stworzenia w pełni wartościowej tkanki. Raportowane w literaturze sposoby usuwania

komórek z tkanki dawcy różnią się stopniem skuteczności acelluryzacji, mają także różny wpływ na strukturę składników macierzy zewnątrzkomórkowej i właściwości biomechaniczne przeszczepu. Fundamentalnym zagadnieniem jest również funkcjonalizacja powłok nanoszonych na powierzchnię macierzy pod kątem hamowania procesów wykrzepiania oraz możliwości uwalniania leku do krwioobiegu.

W swojej rozprawie mgr inż. Gabriela Imbir podjęła nowoczesny i innowacyjny temat kształtowania funkcjonalnej atrombogennej powłoki dedykowanej do acellularnej tkanki odzwierzęcej do zastosowania na elementy protez w układzie sercowo-naczyniowym człowieka. Jest to bardzo aktualna, złożona, a równocześnie ciągle nie w pełni rozwiązana problematyka badawcza.

Swoje opracowanie Autorka przedstawiła łącznie na 132 stronach zawierających tekst pracy, tabele, rysunki, wykresy, wykaz cytowanej literatury oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Fundamentalny dla pracy to rozdział 4 zawierający w kolejnych podpunktach wyniki badań własnych dotyczących acelluryzacji tkanki odzwierzęcej dla celów otrzymania rusztowania stanowiącego biodegradowalną macierz zewnątrzkomórkową oraz technologii jej funkcjonalizacji powierzchniowej umożliwiającej hamowanie procesu krzepliwości krwi. Jako metody modyfikacji powierzchni macierzy Doktorantka zaproponowała technologie: wielowarstwowych powłok polielektrolitowych oraz powłok na bazie hydrożeli i powłok w postaci nośnika leku. Dyskusja i wnioski przedstawione w rozdziałach 5 i 6 eksponują oryginalne elementy rozprawy doktorskiej mgr inż. Gabrieli Imbir.

## **1. Ocena merytoryczna rozprawy**

Praca ma typowo doświadczalny charakter. Doktorantka posiada już rozległą i ugruntowaną wiedzę z zakresu inżynierii materiałowej i biomedycznej oraz instrumentalnych metod badań doświadczalnych własności fizykalnych i funkcjonalnych biomateriałów. Prawdłowo potrafi ocenić podjęty przez siebie problem, właściwie sformułować tezę i cele badawcze, do realizacji których stosuje odpowiedni plan badań eksperymentalnych oraz zaawansowane narzędzia nowoczesnych metod pomiarowych struktury i morfologii tkanek oraz ich własności wytrzymałościowych, adhezji komórek do powierzchni, ich żywotności oraz immunogenności pod kątem czynników pro-zapalnych. Biegłe porusza się w podjętej tematyce badawczej i właściwie potrafi skomentować otrzymane wyniki swoich badań na tle

osiągnięć badawczych publikowanych przez innych autorów. Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki moim zdaniem należy zaliczyć:

- obszerne, aktualne i wyczerpujące studium literaturowe dotyczące projektowania oraz metod badań biomateriałów dedykowanych na współczesne protezy sercowo-naczyniowe,
- opracowanie wariantowych procedur funkcjonalizacji powierzchniowej powłok hamujących proces wykrzepiania dedykowanych acellularnej świńskiej tkance osierdza oraz zastawce aortalnej do zastosowania w elementach protezy sercowo-naczyniowej człowieka,
- wykazanie w ramach opracowanych procedur następujących prawidłowości:
  - modyfikacja powierzchniowa warstwami polielektrolitowymi na bazie chiozanu i siarczaniu chondroityny podnosi właściwości hemozgodne, a zastosowanie procesu poprzecznego sieciowania istotnie obniża chropowatość powierzchni oraz jej zwilżalność; natomiast wprowadzenie w pokrycie nanocząstek węgla znacznie wpływa na zwilżalność przesuwając charakterystykę powierzchni w stronę materiału hydrofobowego,
  - materiały na bazie poliuretanowych hydrożeli, w tym modyfikowanych kwasem akrylowym, mimo dobrych własności hydrofilowymi, nie są dobrymi materiałami do funkcjonalizacji powierzchniowej ze względu na niską hemozgodność,
  - powłoki w postaci nośnika leku utworzone na bazie nanokapsuł kopolimeru kwasu mlekowego i glikolowego oraz kompleksów micelarnych umożliwiają uwalanie leku do krwiobiegu ale charakteryzują się stosunkowo niską hemozgodnością,
- wykonanie szerokiego, wielotorowego programu badań eksperymentalnych realizującego przyjętą hipotezę badawczą z wykorzystaniem najnowocześniejszej aparatury badawczej, w zakresie: elektronowej mikroskopii skaningowej i transmisyjnej, mikroskopii konfokalnej, mikroskopii sił atomowych, cystometrii przepływowej, badań hydrodynamicznych przy wysokich prędkościach ścinania, czy badań wytrzymałościowych materiałów tkankowych.

Podsumowując tę część opinii mogę stwierdzić, że przedstawiona do oceny rozprawa niewątpliwie zawiera istotne aspekty poznawcze, a wymienione powyżej jej elementy stanowią niezaprzeczalnie oryginalny dorobek Autorki w zakresie badań nowych materiałów o projektowanych właściwościach, szczególnie dotyczących możliwości funkcjonalizacji ich powierzchni, mogących znaleźć szerokie zastosowanie w leczeniu chorób układu krążenia człowieka. Praca napisana w języku angielskim jest bardzo starannie zredagowana edycyjnie, z odpowiednią reprezentacją graficzną.

## 2. Uwagi krytyczne

W punkcie tym chciałem przedstawić nieliczne uwagi krytyczne, które nasunęły mi się po zapoznaniu się z recenzowaną pracą. Najważniejsze z nich to:

- dla recenzenta zajmującego się metodami doświadczalnymi mechaniki ciała stałego brak jest w pracy syntetycznego opisu liczebności prób w poszczególnych szarżach badawczych; rodzi to pytanie na ile prezentowane wykresy/przebiegi zmienności danych funkcji są reprezentatywne,
- w powyższym kontekście zbyt werbalnie w podpisach pod rysunkami używane jest określenie ‘Data represents Mean  $\pm$ SD’; jeżeli dla wartości dyskretnych jest to właściwe podejście (np. Rys. 4.15, 4.16, 4.21 czy 4.23), to dla opisów ciągłych (np. Rys. 4.9 czy 4.35) już nie bardzo,
- przedstawiony na Rys. 4.6 tzw. ‘toe region’ charakteryzuje się zbyt dużym gradientem nachylenia (w przypadku tkanek miękkich jest on o wiele mniejszy); w krzywych odkształceniowo-naprężeniowych przedstawionych na Rys. 4.7 dla tkanki zastawki aortalnej obszar ten w ogóle nie występuje – może to świadczyć o zbyt dużej prędkości odkształcenia stosowanej w próbie rozciągania,
- na Rys. 4.5 błędnie oznaczono kierunki pobrania próbki do badań (osiowy i obwodowy) w stosunku do opisu,
- w podsumowaniu pracy brak kierunków dalszych badań, szczególnie w kontekście wykorzystania i wdrożenia wyników badań przedstawionych w rozprawie.

Uwagi te oczywiście nie obniżają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej oraz mojej jednoznacznie pozytywnej o niej opinii.

### **3. Wniosek końcowy**

Po zapoznaniu się z treścią rozprawy stwierdzam, iż w moim przekonaniu praca jest metodycznie poprawna, jej cele zostały zrealizowane, a przyjęta hipoteza naukowa udowodniona. Autorka przedstawiła własną, oryginalną procedurę badań i oceny własności biomateriałów tkankowych w zastosowaniach do elementów protez sercowo-naczyniowych uwzględniającą funkcjonalizację powierzchniową powłok hamującą procesy trombogenne. Doktorantka wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia prac badawczych, popartą bardzo dobrym przygotowaniem w zakresie przeglądu literaturowego przedmiotowego zagadnienia.

Dorobek naukowy oraz rozprawę doktorską mgr inż. Gabrieli Imbir można sklasyfikować w dziedzinie nauk technicznych w dyscyplinie naukowej inżynieria materiałowa.

Opiniowana praca odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim i, w nawiązaniu do przepisów Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) oraz w związku z § 179 ust. 1 Ustawy z dn. 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r., poz. 1669), wnoszę o jej przyjęcie i dopuszczenie Autorki do publicznej obrony przed Radą Naukową Instytutu Metalurgii i Inżynierii Materiałowej Polskiej Akademii Nauk im. Aleksandra Krupkowskiego w Krakowie.

