

Prof. dr hab. inż. Elżbieta Pamuła
Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Biomateriałów
Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

Kraków, 26 sierpnia 2016

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr MONIKI GOŁDY-CĘPY
pt. „*Application of parylene C for implants surface tailoring:
anti-infective and biocompatibility function*”

Promotor pracy Prof. dr hab. Andrzej Kotarba

wykonana na zlecenie

Dziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego

Według analiz Światowej Organizacja Zdrowia (WHO) choroby oraz uszkodzenia kości i stawów stanowią połowę wszystkich schorzeń chronicznych u osób, które przekroczyły 50-ty rok życia. W wielu przypadkach schorzenia te wymagają leczenia chirurgicznego z wykorzystaniem implantów konstrukcyjnych takich jak endoprotezy stawów, śruby, gwoździe czy płytki zespalające. Klasyczne implanty tego typu wykonywane są głównie ze stali medycznej lub stopów tytanu i pełnią w zasadzie funkcję podporową. Obecnie poszukuje się nowych rozwiązań, które nadałyby im funkcję terapeutyczną, poprawiły biogodność oraz ograniczyły uwalnianie z nich toksycznych jonów powstających w wyniku procesów korozyjnych.

Praca doktorska pani mgr Moniki Gołdy-Cępy dotyczy opracowania wielofunkcyjnej powłoki polimerowej do pokrywania implantów metalowych, która będzie chroniła je przed korozją w środowisku biologicznym, poprawi biogodność z tkanką kostną, ograniczy zasiedlanie przez szczepy chorobotwórcze i będzie mogła pełnić funkcję nośnika leków. Tematyka ta budzi duże zainteresowanie na świecie, zarówno w sferze badań podstawowych jak i aplikacyjnych. Z tego względu uważam, że wybór tej tematyki jest jak najbardziej trafny, a jej aktualność w pełni uzasadnia podjęcie takich badań.

Praca została napisana w języku angielskim. Poprzedza ją 3-stronnicowe streszczenie w języku polskim oraz spis użytych skrótów. Praca liczy 80 stron i jest podzielona na 8 rozdziałów: przedmowę, w której zawarta jest informacja o projektach, z których były finansowane badania prowadzone przez Doktorantkę, następnie jest wprowadzenie, po czym opisany jest cel i zakres pracy, dalej następuje opis metod eksperymentalnych oraz prezentowane i dyskutowane są najważniejsze wyniki i wyciągane z nich wnioski. Pracę kończy stanowiący 98 pozycji spis bibliografii. Ponadto jako aneks opracowanie zawiera 8 artykułów Doktorantki tematycznie związanych z pracą, z których 7 zostało już opublikowanych w renomowanych, recenzowanych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania, a także jeden opis zgłoszenia patentowego. Do opracowania załączono też oświadczenia współautorów o ich udziale w powyższych pracach, które wykazują na dominującą rolę Doktorantki w przeprowadzonych badaniach.

W pierwszej części rozprawy na 19 stronach (Rozdział 2) Autorka dokonała analizy literatury obejmującej zagadnienia związane z przedmiotem pracy. Uzasadniła celowość stosowania różnych strategii mających na celu nadanie implantom właściwości antykorozyjnych. Następnie skupiła się na zagadnieniu biogodności implantów z tkanką kostną opisując wpływ zarówno budowy chemicznej powierzchni jak i topografii na tzw. „*race for surface*” tj. zjawisko polegające na preferencyjnym zasiedlaniu powierzchni implantów albo przez komórki bakteryjne albo przez komórki kostne. W dalszej części opisała metody wprowadzania leków opierające się m.in. na polimerze resorbowanym PLGA a także dowiodła, że parylen C, dotychczas stosowany jako pokrycia stymulatorów serca czy stentów naczyniowych, może z powodzeniem być wykorzystany również w implantach ortopedycznych. Rozdział ten jest bardzo dobrze napisany, Doktorantka z dużym wyczuciem porusza się w zagadnieniach dotyczących inżynierii biomateriałów, modyfikacji powierzchni i jej wpływu na aktywność biologiczną.

W rozdziale 3 (kolejne 3 strony) Autorka zdefiniowała cele pracy doktorskiej i zakres prowadzonych badań. Zostały one przedstawione zwięźle, również w formie graficznej, co wydatnie świadczy o zdolności Doktorantki do syntetycznego precyzowania istoty prowadzonych przez nią badań.

Podsumowując opinię na temat części literaturowej rozprawy muszę stwierdzić, że została ona przygotowana w sposób wzorowy, zauważyłam w niej tylko kilka błędów edytorskich o marginalnym znaczeniu, dlatego ich nie wymieniam.

W rozdziale 4 (kolejnych 17 stron) opisane zostały materiały użyte w pracy, metody modyfikacji powierzchni a także metody analityczne służące do scharakteryzowania ich właściwości, przede wszystkim właściwości powierzchni, właściwości biologicznych i kinetyki uwalniania leków. Liczba użytych technik badawczych jest imponująca (ponad 20),

są one opisane skrótowo, ale w wystarczający sposób; więcej informacji czytelnik może znaleźć w załączonych publikacjach Autorki, do których kierują go odnośniki. Rozdział ten zawiera również omówienie trzech aspektów metodologicznych dotyczących wyznaczania energii powierzchniowej, doboru parametrów obróbki w plazmie tlenowej a także opis metody wyznaczania ilości uwolnionej gentamycyny. Co prawda, w rozdziale tym przedstawiono również wyniki badań, ale jest to w pełni uzasadnione. Z obowiązku recenzentki chciałabym tylko zwrócić uwagę na pewne nieścisłości, które dostrzegłam w tym rozdziale. Na stronie 33 pojawił się termin „*UV-Vis spectrometry*” a powinno być „*UV-Vis spectroscopy*”. Analizując Figure 4.2 zauważyłam, że pierwszy punkt czasowy (dla czasu zero) przedstawia wyniki stężenia węgla i tlenu na powierzchni parylenu C przed obróbką a nie bezpośrednio po obróbce plazmą tlenową, jak sugeruje podpis pod rysunkiem. Dlatego, rysunek ten powinien zostać zmodyfikowany, gdyby Autorka planowała w przyszłości jego publikację.

W rozdziale 5 (kolejnych 27 stron) zostały zaprezentowane i przedyskutowane najważniejsze wyniki uzyskane w ramach doktoratu. Najpierw przedstawiono wyniki dowodzące, że inkubacja w płynie fizjologicznym stali 316L i stopu tytanu przyspiesza ich korozję. Nie znalazłam jednak danych jaki był skład płynu i ile trwała inkubacja. W dalszej części Autorka omówiła wpływ pracy wyjścia próbek tytanu poddanych obróbce elektrochemicznej na adhezję komórek bakteryjnych, z których wynika, że wraz ze zmniejszeniem się pracy wyjścia zmniejsza się adhezja gronkowca złocistego do powierzchni. Nasuwa się tu jednak pytanie, czy do określenia współczynnika korelacji użyto jakichś testów statystycznych, np. Spearmana? Czy próbowano poszukiwać korelacji pomiędzy adhezją komórek bakteryjnych a parametrami chropowatości? Czy przeprowadzono, lub czy planuje się w przyszłości przeprowadzenie badań z innymi szczepami bakteryjnymi, nie tylko Gram+ ale i Gram- (np. pałeczka ropy błękitnej), aby potwierdzić, że taka zależność nie była przypadkowa?

W kolejnym podrozdziale zaprezentowane zostały przekonujące wyniki, że pokrycie stali warstwą parylenu C istotnie poprawia odporność korozyjną, właściwości trybologiczne oraz przeciwdziała uwalnianiu toksycznych jonów, co było jednym z założeń pracy.

W następnych dwóch podrozdziałach zatytułowanych „*Biocompatibility*” i „*Anti-infection function*” przedstawiono i przeanalizowano wyniki dotyczące wpływu plazmy tlenowej na budowę i właściwości parylenu C. Udowodniono, że w wyniku oddziaływania plazmy tlenowej w odpowiednich warunkach procesu powstają stabilne grupy aldehydowe, karboksylowe i hydroksylowe, które powodują wzrost zwilżalności i energii powierzchniowej. W wyniku oddziaływania plazmy następuje też wzrost chropowatości w skali nanometrycznej a także stopnia krystaliczności polimeru. Bardzo ciekawe jest, że

zmodyfikowana powierzchnia parylenu C wykazuje większą podatność na mineralizację i lepszą adhezję komórek kostnych, co jest bardzo korzystne w przypadku implantów przeznaczonych do kontaktu z tkanką kostną. Kolejnym bardzo użytecznym wynikiem jest to, że opracowana metoda modyfikacji plazmą tlenową, choć nie ma wpływu liczbę zaadherowanych bakterii, to przeciwdziała ich aglomeracji, a to sprawia, że tworzenie biofilmu jest opóźnione. Dyskusję wyników w tych podrozdziałach, która wiąże wszystkie uzyskane dane, tłumaczy zachodzące zjawiska i wyjaśnia przyczyny zmian analizowanych parametrów uważam za bardzo wartościową i dojrzałą.

Ostatni podrozdział „*Therapeutic function*” przedstawia wyniki modyfikacji powierzchni poprzez naniesienie warstwy polimeru resorbowalnego PLGA zawierającego ibuprofen, diklofenak i gentamycynę oraz nanoczątek gentamycyny otrzymany metodą sonochemiczną. Wyniki te są również ciekawe z punktu widzenia aplikacji. Czy Doktorantka mogłaby mi wyjaśnić czy warstwa PLGA z lekiem była nanoszona poprzez polimeryzację monomerów z udziałem inicjatora i leku (jak to jest opisane w zgłoszeniu patentowym), czy też lek był zawieszany w roztworze PLGA w dichlorometanie i następnie nanoszony na podłoże (co wynika z opisu w artykule VIII)? Odnośnie formatowania tekstu, to chciałabym zwrócić uwagę, że ostatni akapit w tym podrozdziale występuje dwukrotnie.

Pracę kończą dwa rozdziały: „*Summary*” i „*Conclusions*”, które bardzo dobrze podsumowują przeprowadzone badania i uzyskane wnioski. Pozycje literaturowe zostały dobrane w adekwatny sposób, jednak sposób ich prezentacji w niektórych miejscach jest niejednorodny (tytuły czasopism są pisane dużymi literami albo dużymi i małymi). Na wymienione niewielkie niedociągnięcia, głównie natury edytorskiej, zwróciłam uwagę z obowiązku recenzentki, aby Doktorantka nie powieliała ich w przyszłości w kolejnych swoich pracach, ale nie umniejszają one mojej wysokiej oceny merytorycznej recenzowanej pracy.

Podsumowując chciałabym podkreślić, że eksperymenty w doktoracie zostały doskonale przemyślane, zaplanowane i wykonane. Na podkreślenie zasługuje też, że oprócz jednostki macierzystej – Wydziału Chemii UJ, Doktorantka prowadziła badania również w Katedrze Mikrobiologii Collegium Medicum UJ oraz w Royal Institute of Technology KTH w Sztokholmie a badania te były finansowane aż z trzech projektów: Preludium, Etiuda i Ventures. Prace prowadzone w ramach doktoratu zaowocowały aż 7 publikacjami w bardzo dobrych recenzowanych czasopismach i jednym zgłoszeniem patentowym; kolejna praca jest w recenzjach. Nie ulega żadnej wątpliwości, że zarówno zakres prowadzonych badań i osiągnięte wymierne efekty świadczą, że środki przyznane na badania zostały doskonale wykorzystane a uzyskane wyniki są bardzo wartościowe pod względem naukowym jak i aplikacyjnym. Pani mgr Monika Gołga-Cępa wykazuje ponad przeciętną aktywność

naukową i może pochwalić się bardzo dobrym dorobkiem, jak na ten etap rozwoju naukowego. Z całą pewnością można stwierdzić, że jest już doświadczonym i bardzo wartościowym młodym badaczem.

Rozprawa doktorska pani mgr Moniki Gołdy-Cępy jest bardzo dobrze napisana: ma logiczny układ, dobre proporcje pomiędzy częścią literaturową, opisem metodyki, prezentacją wyników i ich dyskusją. Jest przykładem wzorowo zaplanowanych i przeprowadzonych prac doświadczalnych, a wyniki w niej opisane mogą stanowić podstawę do wykorzystania w przyszłości opracowanych wielofunkcyjnych powłok polimerowych w badaniach doświadczalnych na zwierzętach a potem w badaniach klinicznych. Przytoczone w recenzji uwagi i pytania nie wpływają na moją wysoką ocenę merytoryczną recenzowanej rozprawy.

Uważam, że recenzowana rozprawa doktorska, tak ze względu na wartości naukowe, znaczenie poznawcze oraz wysoki poziom warsztatu naukowego, spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim w myśl ustawy o stopniach naukowych i tytułach naukowych i w związku z tym wnoszę o jej przyjęcie oraz dopuszczenie pani mgr Moniki Gołdy-Cępy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę, że praca doktorska pani mgr Moniki Gołdy-Cępy jest bardzo bogata metodycznie, dostarcza nowych i wartościowych informacji na temat projektowania nowoczesnych wielofunkcyjnych powłok na implantach metalicznych a Doktorantka ma ponadprzeciętny dorobek naukowy i ze swobodą wykorzystuje różnorodne narzędzia badawcze z zakresu chemii, inżynierii materiałowej i biologii, uważam, że praca doktorska w pełni zasługuje na wyróżnienie.

E. Piusi