

AGH

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW I KOMPOZYTÓW

Prof. hab. inż. **Elżbieta PAMUŁA**

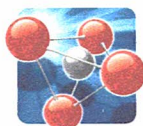
Kraków, 7 czerwca 2019

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. DARII GŁOGOCKIEJ
pt. *"Oddziaływanie jonów żelaza, chromu i kobaltu
z wybranymi strukturami biologicznymi"*
zrealizowanej pod kierunkiem Promotorów
Prof. dr. hab. inż. Marka Langnera
Prof. dr. hab. Martina Hofa

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały
Rady Wydziału Podstawowych Problemów Techniki
Politechniki Wrocławskiej
z dnia 3 kwietnia 2019 oraz zlecenia
Dziekana Wydziału Prof. dr. hab. inż. Arkadiusza Wójcisa
z dnia 11 kwietnia 2019

Korozja i zużycie trybologiczne implantów metalicznych są zjawiskami bardzo niekorzystnymi, gdyż w ich wyniku dochodzi do uwalniania drobin i jonów metali do otaczających tkanek i węzłów chłonnych, które następnie w postaci jonów przedostają się do płynów ustrojowych. Mogą one powodować szereg skutków ubocznych i stanów patologicznych u pacjenta w miejscu kontaktu implantu z tkankami a do nich należy przede wszystkim aseptyczne obłuzowanie implantu, które często obserwuje się w przypadku endoprotez stawu biodrowego. Ponadto podwyższenie stężenia jonów metali ciężkich w płynach ustrojowych i odległych narządach skutkuje zaburzeniem homeostazy, przewlekłym stanem zapalnym i powstawaniem reakcji alergicznych, określanych często terminem *metalozą*. Zjawisko to jest szczególnie niebezpieczne w przypadku



wimic

Akademia Górniczo-Hutnicza | Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Biomateriałów i Kompozytów

al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, tel. +48 12 617 44 48, fax. +48 12 617 33 71
e-mail: epamula@agh.edu.pl, www.ceramika.agh.edu.pl
Regon: 000001577, NIP: 675 000 19 23

osób uczulonych na metale, co kwalifikuje takich pacjentów do operacji rewizyjnej i wymiany implantów wykonanych z typowej stali medycznej czy stopów kobalt-chrom-molibden na znacznie droższe implanty wykonane ze stopów tytanu.

W kontekście powyższych przesłanek Pani mgr inż. Daria Głogocka w swojej rozprawie doktorskiej podjęła się oceny oddziaływania jonów żelaza, chromu i kobaltu z wybranymi strukturami biologicznymi, w celu poszerzenia wiedzy na temat ich wpływu na tkanki przylegające do implantu oraz na płyny ustrojowe. Biorąc pod uwagę, że w ortopedii wciąż stosuje się najwięcej implantów wykonanych ze stali medycznej ASI 316L, której głównymi składnikami są żelazo (63% wag.) i chrom (13% wag.) oraz implantów wykonanych ze stopu ASTM F75, w którym dominuje kobalt (58% wag.), chrom (30% wag.) i molibden (7% wag.), to uważam, że wybór przedmiotu i zakresu badań jest jak najbardziej aktualny i w pełni uzasadniony.

Praca została zredagowana w języku polskim, ma typowy układ i liczy w sumie 95 stron. Na początku znajduje się *Wykaz skrótów użytych w pracy*, *Streszczenie* (3 str.), *Wstęp* (20 str.), *Cele i założenia rozprawy* (2 str.), *Materiały i Metody* (w sumie 15 str.), *Wyniki i Dyskusja* (33 str.), oraz *Podsumowanie* (3 str.) Następnie umieszczone są: *Spis tabel i rysunków* oraz *Literatura* składająca się z 152 pozycji. Pracę charakteryzuje bardzo dobra proporcja pomiędzy częścią literaturową i doświadczalną.

We *Wstępie* Autorka najpierw ogólnie opisała rolę metali ciężkich w organizmie człowieka, omawiając drogi, jakimi dostarczane są one do organizmu, a więc zanieczyszczone środowisko, skażona żywność oraz implanty stosowane np. w alloplastyce stawu biodrowego. Potem omówiła wpływ konstrukcji endoprotez stawu biodrowego i występujących w nich par tarcia na uwalnianie drobin metali i jonów, oraz wywoływane przez nie niekorzystne procesy

takie jak: lokalny i systemowy stan zapalny, stres oksydacyjny, zaburzenia homeostazy. W kolejnych podrozdziałach opisała już bardziej szczegółowo pozytywny jak i negatywny wpływ metali ciężkich takich jak żelazo, chrom i kobalt na szlaki biochemiczne oraz homeostazę. Ta część pracy jest bardzo dobrze zredagowana, choć można znaleźć tam pewne błędy i nieścisłości, takie jak użycie terminu „organ” zamiast „narząd” w odniesieniu do człowieka (str. 13, str. 20), „metakrylan polimetylu” zamiast „poli(metakrylan metylu)”, „tlenek glinu AlO_2 ”, zamiast „ Al_2O_3 ”, „wkładka współpracująca z głową endoprotezy” zamiast „panewka endoprotezy stawu biodrowego” (str. 12).

Następnie Doktorantka skupiła się na zagadnieniach i składnikach dotyczących układów modelowych, które później wykorzystywała w części doświadczalnej pracy. Bardzo ładnie zreferowała zjawisko zatłoczenia molekularnego roztworów biologicznych w kontekście jonów, białek i innych molekuł. Dalej omówiła rolę albuminy i jonów istotnych biologicznie takich jak sód, potas i wapń. Później przeszła do omówienia liposomów, jako nośników leków oraz modeli dwuwarstwy lipidowej w błonach biologicznych. Na końcu przeglądu literatury opisała budowę i funkcje tkanki kostnej, z uwagi na jej wykorzystanie w swoim doktoracie, jako modelu do oceny dystrybucji metali ciężkich wydostających się z implantów. Nie mam zastrzeżeń natury merytorycznej do tej części pracy oprócz jednej ewidentnej pomyłki, gdyż autorka napisała, że „osteoklasty to komórki kościotwórcze” a „osteoblasty to kościogubne” (str. 27) a jest odwrotnie: osteoblasty są komórkami kościotwórczymi a osteoklasty – kościogubnymi.

Pomimo tych kilku uwag o charakterze redakcyjnym i językowym, chciałabym podkreślić, że część literaturowa rozprawy została bardzo dobrze zredagowana, a treści w niej zawarte znajdują pełne uzasadnienie w kontekście tematyki rozprawy doktorskiej.

W Rozdziale 3 Doktorantka we właściwy sposób zaprezentowała cele i założenia rozprawy, które sprowadzały się do

oceny oddziaływania jonów metali ciężkich z wybranymi strukturami biologicznymi w skali makroskopowej (model tkanki kostnej) jak i na poziomie molekularnym (modele pozwalające na ocenę wpływu metali ciężkich na procesy wewnątrzkomórkowe).

W rozdziałach 4 i 5, odpowiednio *Materiały i Metody*, Doktorantka opisała sposób przygotowania jednowarstwowych liposomów, przedstawiła ideę spektroskopii emisyjnej indukowanej laserowo (LIBS) i mikroskopii skaningowej elektronowej (SEM) z analizą pierwiastkową w mikroobszarach (EDS), jako metod badawczych stosowanych od oceny rozkładu metali ciężkich w tkance kostnej. Dalej przeszła do omówienia zasady działania izotermicznej kalorymetrii miareczkującej w kontekście wykorzystania tej metody do oceny transportu jonów w obecności czynników zatłaczających. Na końcu tego rozdziału opisała metodę oznaczania kinetyki transportu jonów metali ciężkich w poprzek dwuwarstwy lipidowej w modelowych liposomach za pomocą techniki zatrzymanego przepływu.

W Rozdziale 6 – *Wyniki i Dyskusja* – Autorka opisała opracowaną przez siebie metodę oznaczania przestrzennego rozkładu jonów metali ciężkich w tkance kostnej za pomocą techniki LIBS, która wymagała najpierw dobrania odpowiednich parametrów akwizycji widm a potem przyporządkowania pasm emisyjnych analizowanym jonom metali ciężkich. Określiła ponadto minimalną odległość pomiędzy punktami pomiarowymi, która dla chlorku chromu wynosiła 0,25 mm a dla chlorku kobaltu 0,5 mm; dla chlorku żelaza nie udało się uzyskać pasma emisyjnego, stąd w dalszej części pracy nie analizowano tej soli. Mam uwagę odnośnie formatowania rysunków (np. Rys. 28, 29, 30, 32, 38), które są małe, przez co mało czytelne. Ponadto zastanowiło mnie, dlaczego Doktorantka podaje długości fali analizowanych pasm w nanometrach z dokładnością aż do 4 miejsc po przecinku (Tabela 3)? Proszę Doktorantkę o podanie, z jaką dokładnością w zakresie długości fal możliwe jest rejestrowanie

widm emisyjnych w technice LIBS? Na Rys. 34 i 35 nie podano skali, stąd trudno ocenić wielkość otworów powstałych w wyniku ablacji laserowej powierzchni próbek. Za osiągnięcie tej części pracy należy uznać przygotowanie krzywych kalibracyjnych dla soli kobaltu i chromu w matrycach gipsowych, które można zastosować do analizy tkanki kostnej, w której mogą pojawić się te pierwiastki w wyniku korozji implantów metalicznych. Dalsze wyniki badań LIBS, zweryfikowane za pomocą badań SEM/EDS odnosiły się do próbek kości nasączanych azotanem srebra i przygotowywanych w różny sposób, tj. poprzez liofilizację, suszenie w 40 °C i zamrażanie. Badania wykazały, że sama preparatyka próbek wpływa zarówno na objętość otworów powstałych w wyniku ablacji oraz intensywność pasma odpowiadającego jonom srebra. Czy Autorka wykonała krzywą kalibracyjną dla soli srebra, aby można było określić procentową zawartość tego pierwiastka w tkance, czy też nasączenie tą solą stosowała tylko, jako model do optymalizacji procesów akwizycji sygnału? W dalszej części pracy Doktorantka przedstawiła wyniki rozkładu jonów chromu i kobaltu w tkance kostnej w zależności od odległości od powierzchni próbki, zgodnie z opracowaną przez siebie metodą, co uważam za duże osiągnięcie jej pracy.

Następna część prac doświadczalnych Doktorantki dotyczyła oceny wpływu jonów metali ciężkich tj. żelaza, chromu i kobaltu na procesy wewnątrzkomórkowe a w szczególności na zatłoczenie molekularne roztworów soli istotnych biologicznie tj. sodu, potasu i wapnia. Badania wykazały, że analizowane jony pierwiastków ciężkich zaburzają termodynamikę tworzenia klastrów jonów wapnia i sodu zmieniając je z procesów egzotermicznych na endotermiczne. Zaobserwowano też wzrost entalpii rozcieńczania jonów w obecności jonów metali ciężkich. Ponadto badania oddziaływania tych jonów z modelową dwuwarstwą lipidową za pomocą techniki zatrzymanego przepływu wykazały, że dochodzi do obniżenia energii potrzebnej do utworzenia porów i spadku przepuszczalności dwuwarstwy lipidowej. Z uwag natury edytorskiej chciałabym wymienić to, że Rys. 58 występuje dwukrotnie – na str. 74 i 75.

Pracę kończy rozdział 7 – *Podsumowanie*, który bardzo dobrze zestawia wyniki przeprowadzonych eksperymentów. Świadczy to o tym, że Doktorantka potrafiła dokonać syntetycznej i krytycznej analizy uzyskanych przez siebie wyników i stwierdzić, że uzyskane przez nią dane mogą być podstawą do dalszych badań nad wpływem jonów metali ciężkich uwalnianych z implantów metalicznych na organizm człowieka. Mam tylko jedną uwagę – w rozdziale tym aż w trzech miejscach (akapit 1 i 2) pojawia się informacja jakoby oprócz jonów kobaltu, chromu i żelaza, badano też wpływ jonów cynku na procesy biologiczne, co nie znalazło odzwierciedlenia w prezentowanych i dyskutowanych wynikach w rozdziale 6.

Podsumowując chciałabym podkreślić, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Darii Głogockiej jest właściwie zredagowana: ma logiczny układ, bardzo dobre proporcje pomiędzy częścią literaturową, opisem metodyki badawczej, prezentacją wyników i ich dyskusją. Ponadto zawiera bogaty materiał doświadczalny, należycie przedyskutowany. Wyniki w niej zaprezentowane są wartościowe i z całą pewnością mogą być opublikowane w recenzowanych czasopismach z dyscypliny inżynierii biomedycznej.

Chcę podkreślić, że przytoczone przeze mnie w recenzji uwagi krytyczne są punktem wyjścia do dyskusji naukowej albo są natury edytorskiej i nomenklaturowej. Nie wpływają one na moją wysoką ocenę merytoryczną recenzowanej rozprawy.

Uważam, że recenzowana rozprawa doktorska, tak ze względu na wartości naukowe, znaczenie poznawcze i aplikacyjne oraz wysoki poziom warsztatu naukowego, spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim w dyscyplinie inżynieria biomedyczna w myśl obowiązującej ustawy i w związku z tym wnoszę o jej przyjęcie oraz dopuszczenie Pani mgr inż. Darii Głogockiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

