



# UNIwersytet Medyczny IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wydział Lekarski  
Instytut Chorób Serca  
Zakład Obrazowania Układu Sercowo-Naczyniowego  
adiunkt  
dr hab. Marta Obremska

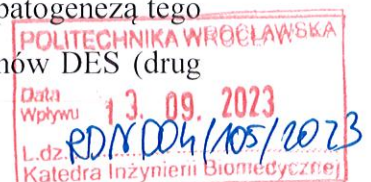
Wrocław, 14.08.2023

Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Przemysława Sareło  
pt.: „*Immunofunkcjonalizacja powierzchni stentów kardiowaskularnych poprzez  
wprowadzenie interleukin przeciwzapalnych*”

**Opiekun naukowy** dr hab. Marta Kopaczyńska prof. uczelni  
Katedra Inżynierii Biomedycznej  
Wydział Podstawowych Problemów Techniki  
Politechnika Wroclawska

Nadal najczęstsza przyczyną zgonów w Polsce są choroby układu krążenia, a wśród nich choroba niedokrwienna serca rozwijająca się w 98% w przebiegu miażdżycy tętnic wieńcowych. W patogenezie miażdżycy podkreśla się przewlekły stan zapalny ściany tętnicy, który prowadzi do jej pogrubienia a następnie ograniczenia światła przepływu. Efektem jest niedostateczny dopływ krwi a wraz z nią tlenu i substancji odżywczych do zapatrywanego przez daną tętnicę obszaru tkanek. Choroba niedokrwienna serca może przebiegać pod postacią przewlekłych lub ostrych zespołów wieńcowych. Objawy kliniczne obejmują szerokie spektrum od przypadków bezobjawowych poprzez różne stopnie stabilnej dławicy piersiowej, niestabilnej dławicy piersiowej, zawału serca i nagły zgon sercowy. Leczenie inwazyjne choroby niedokrwiennej serca w postaci przezskórnej interwencji wieńcowej (PCI, percutaneous coronary intervention) zmieniło diametralnie rokowanie i przeżycie chorych z chorobą niedokrwienna serca. PCI z wszczepieniem stentu to aktualnie najczęstsza forma leczenia istotnych zwężeń w tętnicach wieńcowych.

Jednym z poważnym powikłań po zabiegu PCI jest restenoza w stencie i nawrót zwężenia tętnicy z wszystkimi konsekwencjami, w tym koniecznością powtórnej rewaskularyzacji. Częsta restenoza w przypadku stenów metalowych była powodem badań nad patogenezą tego zjawiska i ostatecznie wprowadzeniem do codziennej praktyki klinicznej stenów DES (drug



eluting stent) powlekanych substancją immunosupresyjną, która poprzez stopniowe jej uwalnianie ma zapobiegać przerostowi neointymy i powstaniu restenozy. Antyproliferacyjny efekt uwalnianych leków, ściśle związany z działaniem i skutecznością DES, indukuje jednak zmniejszoną produkcję tlenu azotu i zmniejszoną ekspresję cząsteczek przeciwzkrzepowych, prowadząc do niepełnej i opóźnionej regeneracji śródbłonka. W rezultacie fizjologiczna funkcja barierowa śródbłonka jest upośledzona. Zmienione połączenia komórkowe, sprzyjają migracji lipoprotein w obszarze podśródbłonkowym, co prowadzi do rozwoju neomiażdżycy (NA neo-atherosclerosis). Polimery powłok stentów DES mogą również wywoływać przewlekłe stany zapalne charakteryzujące się naciekaniem limfocytów, makrofagów i komórek olbrzymich, przyczyniając się do rozwoju NA. W badaniach autopsyjnych wykazano większe odkładanie się proteoglikanów wokół stenów DES co potencjalnie faworyzuje NA, ponieważ proteoglikany pośredniczą w zatrzymywaniu lipoprotein w przestrzeni podśródbłonkowej. Wprowadzenie biodegradowalnych powłok w stentach nie przyniosło istotnej poprawy rokowania w wystąpieniu powikłań odległych. W prewencji wymienionych powikłań stosowana jest przewlekła terapia hypolipemizująca i przeciwplatekowa. W tym celu też rozważane jest włączenie leków przeciwzapalnych a ostatnio analogów GPT-1 i inhibitorów DPP-4 w przewlekłej terapii po zabiegach PCI.

Powikłania po stentach DES, zwłaszcza w obliczu ich powszechnego stosowania, są dużym wyzwaniem dla kardiologów interwencyjnych. Stale prowadzone są badania nad poszukiwaniem nowych generacji stenów, które nie tylko udrożnią zwężoną tętnicę, ale zagoją uszkodzenie wywołane implantacją stentu oraz będą pobudzać reendotelializację i hamować proces NA.

Dlatego podjęte badania Doktoranta w tym obszarze są w pełni uzasadnione.

We wstępie Doktorant przedstawia aktualny stan wiedzy w oparciu o bogate dane z piśmiennictwa dotyczące patomechanizmu miażdżycy oraz patomechanizmu restenozy w stencie, koncentrując się na wybranych efektach molekularnych i komórkowych zależnych od interleukiny 4 i 10 w okresie przed i poimplantacyjnym. W kolejnej części wstępu przedstawia właściwości fizyko-chemiczne proponowanej, autorskiej powłoki stentu oraz technologię wprowadzania na jej powierzchnię interleukin.

Motywuując przeprowadzone badanie Doktorant wspomina o swoich wcześniejszych badaniach i publikacjach dotyczących biofunkcjonalizowania powłok stenów kardiowaskularnych. Badania te były prowadzone w zespole z wieloletnim doświadczeniem w technikach pomiarowych umożliwiających kompleksową charakterystykę powłok oraz w prowadzeniu badań in vitro wybranych linii komórkowych. Obserwacje i doświadczenia z tych badań oraz analiza patogenezы molekularno-komórkowej stanu zapalnego ściany tętnic w

patomechanizmie miażdżycy skłoniły Doktoranta do podjęcia dalszych badań. Wybór typu powłoki stentu oraz jej funkcjonalizacja interleukiną 4 i interleukiną 10 jest bardzo obiecujący w kontekście miejscowego działania przeciwzapalnego jako kluczowej strategii w hamowaniu restenozy i NA.

Celem pracy jest: otrzymanie powłoki na bazie polimerów (polidopamina i chitozan) na powierzchni kobaltowo-chromowego stentu kardiowaskularnego hamującej proces zapalny ściany naczynia wywołany uszkodzeniem interwencją wieńcową oraz miażdżycą, charakterystyka fizyko-chemiczna powłoki w oparciu o wybrane techniki pomiarowe oraz określenie właściwości biologicznych powłoki *in vitro* poprzez ocenę żywotności i aktywności biologicznej wybranych linii komórkowych.

Realizacja celów badania wynika z przyjętych przez Doktoranta czterech tez badawczych. Zakładają one możliwość technologicznego procesu, który zapewni pokrycie stentu powłoką bazową o zaplanowanych parametrach fizyko-chemicznych i właściwościach biologicznych. Kolejna teza dotyczy możliwości związania z powłoką bazową stentu interleukin o działaniu przeciwzapalnym. Następne tezy zakładają, że procedura wiązania interleukin na powłoce nie będzie hamować naturalnych procesów naprawczych śródbłonna, ale dodatkowo będzie je wzmacniać poprzez wykazanie minimum dwóch efektów przeciwmiażdżycowych na poziomie molekularnym bądź komórkowym.

Metody badawcze zostały zaplanowane i opisane prawidłowo. Doktorant przedstawia procedurę przygotowania autorskiej powłoki dla stenów kardiowaskularnych, techniki jej oceny, metody hodowli komórkowych oraz metody oceny biologii komórkowej i molekularnej.

W rozdziale *Wyniki i Dyskusja* Doktorant opisuje uzyskane wyniki w oparciu o prace innych autorów a następnie interpretuje je w kontekście założonych tez badania. Autor przedstawia nową metodę uzyskania powłoki podkreślając jej efektywność i prosty sposób realizacji, korzystnej w odniesieniu do ewentualnych procesów produkcyjnych. Zwraca uwagę opublikowanie po raz pierwszy widma interleukiny 4 i interleukiny 10, które następnie są wykorzystywane przy ocenie fizyko-chemicznej struktury powłoki. Parametry te zapewniają stopniowe linowe uwalnianie interleukin z powłoki osiągając maksymalne ich stężenie pod koniec okresu obserwacji (10 dni), co ma istotne znaczenie w kontekście patogenezy restenozy. Ocena aktywności biologicznej otrzymanej powłoki również wskazuje na jej działanie przeciwzapalne. Wyniki zaplanowanych i przeprowadzonych badań dowodzą założonym tezom pracy.

W pełni zgadzam się z przedstawionym oryginalnym wkładem w tematykę pracy. Doktorant udowodnił, że jest możliwe nie tylko pokrycie stenów kardiowaskularnych wybranym materiałem o specyficznych cechach fizyko-chemicznych i biologicznych, ale także

ich immunofunkcjonalizacja interleukiną 4-tą i 10-tą. Dzięki znajomości szlaków komórkowych i sygnałowych stanów zapalnych miażdżycy Doktorant proponuje po raz pierwszy powłokę, która ingeruje w proces zapalny restenozy, a także NA poprzez wsparcie czynników przeciwzapalnych. Ponadto stworzona powłoka nie upośledza procesów reendotelializacji powierzchni stentu w ścianie naczynia. Ma to istotne znaczenie we wzmacnieniu procesu regeneracji uszkodzenia naczynia wywołanego urazem związanym z rozprężaniem stentu.

W rozdziale X Doktorant przedstawia uzyskane tytuły zawodowe, które nie tylko uzasadniają zainteresowanie badanym obszarem, ale także wskazują na posiadane umiejętności do ich prowadzenia. Dodatkowo Doktorant dokumentuje doświadczenie w zastosowaniu wielu technik badawczych i pomiarowych oraz pracy laboratoryjnej. Przedstawiona do oceny dysertacja jest kolejnym etapem wcześniej prowadzonych przez Doktoranta badań, które zaowocowały publikacjami w impaktowanych czasopismach oraz wystąpieniami na konferencjach naukowych.

Przedstawiona do oceny dysertacja jest napisana bardzo przejrzysto, co pozwala zrozumieć cel pracy i założone tezy, a następnie śledzić tok rozumowania procesu dowodowego. Graficzny abstrakt dodatkowo umożliwia całościowy wgląd w pracę i porządkuje czytelnikowi przeprowadzony proces badawczy. Jest swoistą mapą dysertacji.

W podsumowaniu Doktorant wykazał się bardzo dobrym przygotowaniem merytorycznym w obszarze prowadzonych badań. Wnikliwa analiza patomechanizmów stanu zapalnego ściany naczynia w przebiegu miażdżycy oraz restenozy w stentach zaowocowała pomysłem przełamania lokalnych procesów miażdżycowych w kierunku sił przeciwzapalnych poprzez stworzenie odpowiedniej powłoki stentu. Przygotowanie autorskiej powłoki o działaniu przeciwzapalnym było możliwe dzięki szerokiej wiedzy teoretycznej oraz wynikiem doświadczenia w technikach badawczych i laboratoryjnych dających możliwość tworzenia oryginalnych projektów badawczych. Doświadczenie naukowe Doktoranta poprzez udział w grantach i projektach naukowych potwierdzają publikacje w renomowanych czasopismach w badanym obszarze, który łączy zagadnienia medyczne z naukami inżynierjno-technicznymi. Doktorant wykazuje się nie tylko sprawnością w formułowaniu i rozwiązywaniu problemów naukowych, ale starannością ich przedstawienia co pomaga w śledzeniu i zrozumieniu każdego etapu badania. Udokumentowana działalność badawcza i naukowa Doktoranta budzi nadzieję na kontynuowanie przeprowadzonych badań w obszarze medycyny eksperymentalnej na modelach zwierzęcych a następnie w obszarze kardiologii translacyjnej.

Rozprawa doktorska pt: „*Immunofunkcjonalizacja powierzchni stentów kardiowaskularnych poprzez wprowadzenie interleukin przeciwzapalnych*” spełnia warunki

określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668)

Mam zaszczyt złożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna Politechniki Wrocławskiej wniosek o dopuszczenie mgr inż. Przemysława Sareło do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wobec wysokiego poziomu merytorycznego, oryginalności metod badawczych oraz publikacji naukowych w tematyce rozprawy w renomowanych czasopismach wnioskuję o jej wyróżnienie.

Wite Sareło