

Kraków, 20 lipca 2023

Recenzja pracy doktorskiej

Fizjologiczne parametry płytek krwi w procesie hemodializy zwierząt i ich zmiany wywołane promieniowaniem z zakresu bliskiej podczerwieni (NIR)

wykonanej przez Panią mgr inż. Katarzynę Galecką

Promotorzy:

Pani prof. dr hab. Małgorzata Komorowska

Pan dr hab. inż. Jerzy Detyna, prof. uczelni

Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wroclawska

Hemodializa to dynamiczny proces pozaustrojowego oczyszczania krwi polegający na ciągłym pobieraniu krwi z kanału cewnika centralnego, w wyniku czego szkodliwe substancje przemiany materii zostają usunięte wraz z wodą. Oczyszczona krew oddawana jest z powrotem do pacjenta za pośrednictwem drugiego kanału cewnika. Hemodializa, jak każdy zabieg prowadzony w krążeniu pozaustrojowym, skutkuje uszkodzeniem elementów morfotycznych krwi i zaburzeniami układu krzepnięcia (stąd wymóg stosowania antykoagulantów). Potencjalne powikłania to zmniejszenie liczby płytek krwi i hemoliza w odpowiedzi na kontakt z powierzchniami obiegu krążenia pozaustrojowego. Rozwiązanie tego problemu, choć częściowe, stanowiło cel naukowy recenzowanej pracy, a hipoteza badawcza mówiła, że potencjalne korzyści może mieć zastosowanie promieniowania z zakresu podczerwieni (NIR).

Praca była wykonana w ramach projektu WROVASC, którego koordynatorem był Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu. Promotorzy pracy to wybitni specjaliści w zakresie biomedycznych zastosowań spektroskopii oraz badań klinicznych, w tym oddziaływania promieniowania NIR na struktury aminokwasów, białek, komórki krwi.

OGÓLNA OCENA ROZPRAWY

Recenzowana rozprawa napisana jest w języku polskim na 130 stronach maszynopisu, dodatkowo przedstawiono wykaz dorobku naukowego, oraz Piśmiennictwo i Załączniki. Układ pracy jest klasyczny (*Streszczenie i Summary, 1. Wprowadzenie, 2. Przegląd stanu wiedzy, 3. Cel pracy i hipoteza badawcza, 4. Materiały i metody badań, 5. Wyniki badań, 6. Dyskusja wyników, 7. Wnioski końcowe i perspektywa dalszych badań*).

Wprowadzenie to przejrzysto opisany proces hemodializy, przyczyny stosowania terapii nerkozastępczej oraz problemy z tym związane. Stosowane w układzie krążenia pozaustrojowego materiały nie są biokompatybilne, co powoduje aktywowanie leukocytów i płytek krwi, prowadzące do zmian sercowo-naczyniowych i zwiększonego ryzyka zachorowań zakrzepowo-zatorowych, mimo stosowania leków przeciwzakrzepowych w trakcie zabiegów. Badania mające na celu eliminację efektów ubocznych obejmują testowanie różnego rodzaju membran dializatora czy procedur przeciwzakrzepowych, ale musi to iść w parze z efektywnym usuwaniem toksyn mocznicowych. Doktorantka opisała stosowane strategie minimalizujące skutki hemoniekompatybilności w hemodializach, przypomniała też długoletnie doświadczenie zespołu Pani Profesor Komorowskiej w badaniach (pozytywnych) skutków działania promieniowania NIR na komórki krwi. Badania te pokazały m.in., że naświetlanie leukocytów prowadzi do zmniejszonej produkcji reaktywnych form tlenu, zmiany przepuszczalności błony dla jonów wapnia oraz stymulacji wydzielania czynnika wzrostu. Płytki krwi naświetlane promieniowaniem NIR wykazywały m.in. zmiany morfologiczne, a także zmniejszone skłonności do agregacji i przylegania. Te badania z pewnością były motywacją dla recenzowanej pracy.

Doktorantka sformułowała hipotezę badawczą (*Promieniowanie z zakresu NIR zastosowane w odpowiedniej dawce działa ochronnie na płytki krwi podczas zabiegu hemodializy*) oraz cel pracy (*Zbadanie wpływu promieniowania z zakresu NIR na własności płytek krwi u zwierząt poddanych długotrwałej hemodializie i wykazanie ochronnego działania podczas krążenia pozaustrojowego*). Dodatkowo Doktorantka pisze o tym, że w pracy przedstawiono autorską metodę pomiaru agregacji płytek, ale to raczej nie cel a podsumowanie już pracy. Cel pracy realizowany był na kilku etapach podzielonych na fazę wstępną i zasadniczą.

Metody badawcze to przede wszystkim sondy spinowe i spektroskopia EPR, które wykorzystano do pomiaru płynności błony przy kontakcie płytek ze szkłem. Doktorantka prowadziła badania na modelu zwierzęcym, 12-tu baranach płci męskiej z gatunku Merino. Zwierzęta przechodziły dwuetapową obustronną nefrektomię, wprowadzano im żylny dostęp do hemodializy w postaci dwuświatłowego cewnika. Zwierzęta poddawano dziesięciu hemodializom. Jako czynnik antykoagulacyjny stosowana była heparyna. Pobierana krew do badań była naświetlana promieniowaniem NIR.

Wyniki i Dyskusja opisane są na stronach 103-127 i obejmują analizę zmian zachodzących podczas trwania hemodializy uwzględniającą miejsce i czas pobrania krwi, analizę różnic między grupą kontrolną i naświetloną, po uśrednieniu wyników dla wszystkich dializ oraz w poszczególnych sesjach niezależnie (i zależnie) od czasu i miejsca pobrania. Doktorantka opracowała swoją nowatorską metodę pomiaru agregacji płytek z wykorzystaniem znacznika spinowego, dokonała też jej weryfikacji i porównania z innymi technikami. Pokazała m.in. mikroskopowe obrazy zmiany kształtu płytek krwi aktywowanych na powierzchni szkła, gdy płytka w różnych stadiach przemiany przechodzi od formy sferoidalnej do rozłożonej. Cały proces trwa kilkanaście minut. Z użyciem skaningowej mikroskopii elektronicznej pokazała etapy adhezji płytki, od spoczynkowej o kształcie dyskooidalnym tuż po zetknięciu z podłożem, poprzez aktywację, zmianę kształtu i emisję pseudopoidów, do pełnej aktywacji i rozłożonej formy płytki przylegającej do szkła. Zmianom rejestrowanym na widmach towarzyszyły zmiany morfologiczne, co Doktorantka porównała i skorelowała. Przeprowadzono też modyfikację stopnia aktywacji by zweryfikować różne stany funkcjonalne płytek krwi. Najważniejszym wynikiem pracy to potwierdzenie ochronnego działania promieniowania NIR na płytki w czasie dializy oraz na koncentraty płytkowe. Skorelowano zmiany płynności z odpowiedzią agregometryczną.

Praca została dobrze zaplanowana, a rozprawa w sposób przejrzysty opisuje etapy badań, analizy i wyciągnięte wnioski. Wyniki są dobrze udokumentowane, a błędy edytorskie nieliczne.

UWAGI SZEGÓŁOWE

Kilka pytań i drobnych komentarzy nasunęły się podczas czytania rozprawy, oto niektóre z nich:

- 1/ Jak Doktorantka widzi możliwość wdrożenia opracowanej metody do praktyki lekarskiej?
- 2/ Jaki jest mechanizm ochronnego działania promieniowania NIR na płytki i krew?
- 3/ W jaki sposób Doktorantka „dobierała model zwierzęcy hemodializy”, o czym mowa m.in. na str.77?
- 3/ Wnioski końcowe zebrane na stronie 129 są napisane w sposób bardzo skondensowany, to raczej skróty myślowe. Proszę rozwinąć jeden z nich, tj. „kwestia wyznaczenia” w pkt 3. wniosków szczegółowych.
- 4/ Czy Doktorantka widzi perspektywę prowadzenia dalszych badań? Czy aplikuje o finansowanie (bo pisze o tym lakonicznie jako „dobór odpowiedniego źródła finansowania”).

5/ Drobne błędy edytorskie czy skróty, które należałoby poprawić to m.in używanie sformułowania „własności” zamiast „właściwości” (np. str. 77) czy skrót „NIR” gdy mowa o „promieniowaniu NIR” (np. wnioski końcowe)

Wymienione tu komentarze i uwagi nie zmieniają oceny pracy, proszę traktować jako pole do dyskusji podczas obrony.

PODSUMOWANIE

Rozprawę Pani Katarzyny Galeckiej oceniam wysoko i uważam, że spełnia ona wymagania stawiane pracom doktorskim. Jest to praca interdyscyplinarna, na pograniczu chemii, biologii, medycyny i inżynierii. Zastosowane podejście metodyczne jest poprawne i nowatorskie, oparte na najnowszej wiedzy. Doktorantka swobodnie porusza się zarówno w zakresie zagadnień medycznych, jak i inżynierskich, i prowadzi analizy spektroskopowe materiału biomedycznego. Praca oparta jest na niestandardowym modelu zwierzęcym, co niewątpliwie stanowiło duże wyzwanie, podobnie jak i procedury medyczne, którym poddano zwierzęta.

Na podkreślenie zasługuje bogaty dorobek naukowy Doktorantki. To 8 publikacji w dobrych czasopismach naukowych, jedyny niedosyt powoduje fakt, że nigdzie Pani Galecka nie jest pierwszym autorem. Publikacje ukazywały się w okresie 2010-2022 (2010 (2), 2013 (1), 2015 (2), 2018 (2) i 2022 (1)), co pokazuje, że Doktorantka przez wiele lat była zaangażowana w te badania. Bogaty jest też dorobek konferencyjny, wg załączonej dokumentacji to 22 prezentacje, w 8-miu z nich Pani Galecka jest pierwszym autorem, co wskazuje na jej czynny udział w tych konferencjach. Jest współautorem zgłoszenia patentowego i wykonawcą dwóch projektów naukowych.

Podsumowując, uważam, że złożona rozprawa spełnia w pełni wymagania stawiane pracom doktorskim określone w *ROZPORZĄDZENIE MINISTRA NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO*1) z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora. Na podstawie art. 31 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) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna w Politechnice Wrocławskiej o dopuszczenie Pani Katarzyny Galeckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

4. Barański