



AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW I KOMPOZYTÓW

Prof. dr hab. inż. Elżbieta PAMUŁA

Kraków, 22 grudnia 2024

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Sary Kulik
pt. *"Warstwy polimerowe oparte na pirolu jako nowoczesne systemy
dozowania substancji leczniczych o aktywności neurologicznej"*
zrealizowanej pod kierunkiem
Promotor Prof. dr hab. Danuty Stróż
i Promotor Pomocniczej Dr inż. Sylwii Golby

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały Rady Naukowej
Instytutu Inżynierii Materiałowej Uniwersytetu Śląskiego
z dnia 15.10.2024 roku i zlecenia
Przewodniczącego Rady Dr. hab. Grzegorza Dercza, prof. UŚ
z dnia 21.10.2024

Schorzenia neurologiczne takie jak np. choroba Parkinsona czy drżenie samoistne są od ok. 20 lat leczone za pomocą urządzeń do głębokiej stymulacji mózgu, które składają się m.in. z neurostymulatora i odpowiednich elektrod, najczęściej platynowo-irydowych. W literaturze można znaleźć doniesienia na temat modyfikacji elektrod za pomocą polimerów przewodzących, stąd badania podjęte przez doktorantkę wpisują się w ten trend. Opracowanie systemów dostarczania substancji leczniczych do leczenia chorób neurologicznych jest również ciekawym tematem. Uważam więc, że wybór tematyki rozprawy doktorskiej jest interesujący i wychodzi naprzeciw potrzebom środowiska medycznego.



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

Rozprawa doktorska pani mgr inż. Sary Kulik została zredagowana w języku polskim i liczy 168 stron. Praca zawiera część teoretyczną (35 stron), cel i hipotezę (1 strona) oraz część badawczą, w której wyróżniono podrozdziały opisujące materiały, aparaturę badawczą, wyniki badań i dyskusję wyników (105 stron). Ponadto praca zawiera rozdział obejmujący podsumowanie i wnioski z przeprowadzonych badań (5 stron) a także spis ilustracji, tabel i 249 pozycji literaturowych. Rozprawę cechuje właściwa proporcja pomiędzy częścią literaturową a doświadczalną.

We wprowadzeniu doktorantka zaznajomiła czytelnika ze stanem wiedzy na temat zagadnień obejmujących jej rozprawę. Jest tam więc omówiona budowa polimerów przewodzących i występujący w nich mechanizm przewodnictwa. Potem autorka przeszła do opisu chorób neurodegeneracyjnych i systemów dostarczania leków. Dalej scharakteryzowała materiały, substancje i metody badawcze wykorzystywane w pracy. Nie mam większych zastrzeżeń merytorycznych do tej części pracy, chociaż doktorantka nie ustrzegła się w niej pewnych błędów merytorycznych i niekonsekwencji, które przytaczam z obowiązku pełnienia roli recenzentki. Na przykład, na str. 6 napisała, że lekiem stosowanym do leczenia chorób neurodegeneracyjnych „jest receptor NMDA – memantyna”. Memantyna nie jest receptorem, ale jest niekompetencyjnym antagonistą receptora NMDA (kwasu *N*-metylo-D-asparaginowego) i jest wykorzystywana do leczenia chorób otępiennych. Na str. 12 doktorantka podała w jednym zdaniu, że populacja na świecie osób w wieku 60+ to 1 milion, a powinien być miliard. W kolejnym zdaniu pisała już o miliardach. Dość dziwnie brzmi zdanie na str. 20; „*W 1952 roku na scenie psychiatrycznej w Paryżu pojawiła się chlorpromazyna.*” Na str. 32 autorka podała, że w doktoracie został wykorzystany tryb kontaktowy pracy mikroskopu sił atomowych, jednak w Tabeli 1 zestawiono czym charakteryzuje się tryb bezkontaktowy; tak samo już w części doświadczalnej na str. 47 pisano o badaniach w trybie bezkontaktowym. Ponadto walory naukowe pracy zostałyby

podniesione, gdyby doktorantka przygotowała spis skrótów i symboli, co bardzo ułatwiłoby czytelnikom studiowanie jej dysertacji.

Następnie został sformułowany cel pracy, którym było *„uzyskanie warstw na bazie polipirolu z wprowadzonymi cząsteczkami substancji leczniczej, które są zdolne do kontrolowanego uwalniania substancji farmakoaktywnych korzystnych w zastosowaniach neurologicznych”*. Doktorantka postawiła też hipotezę badawczą, że *„po przyłożeniu potencjału warstwy te są zdolne do uwalniania substancji farmakoaktywnej do środowiska biologicznego”*. Postawiła też kilka pytań, i np. jedno z nich brzmi: *„Czy przygotowany implant jest aplikowalny w organizmie człowieka i może stymulować regenerację uszkodzonych nerwów?”* W tym miejscu chciałabym poprosić doktorantkę o udzielenie odpowiedzi na to postawione przez nią pytanie w czasie publicznej obrony.

W części badawczej opisano materiały i metody badawcze wykorzystane w pracy, m.in. cykliczną woltamperometrię, chronoamperometrię, spektroskopię UV-vis i FTIR, mikroskopię sił atomowych, skaningową mikroskopię elektronową, mikrowagę kwarcową, badania przyczepności warstwy a także testy aktywności przeciwbakteryjnej. W przypadku tego ostatniego badania błędnie podano nazwę zastosowanego testu – powinno być test dyfuzyjno-krażkowy Kirby’ego-Bauera (a nie „Kribby-Mullera”, patrz str. 50).

W części III doktorantka zaprezentowała i omówiła poszczególne wyniki badań i odniosła się do zadań zaplanowanych w jej Indywidualnym Planie Badawczym zatwierdzonym przez Szkołę Doktorską.

Na początku doktorantka wymieniła materiały użyte jako podłoża do syntezy warstw polimerowych a były to tlenek indowocynowy oraz stal 316L w kształcie pręta i blaszki, jednak zaprezentowane wyniki badań mikrostrukturalnych odnosiły się już tylko do stali 316L i nie doszukałam się w pracy obrazu SEM lub AFM powierzchni tlenku indowo-cynowego. Bardzo proszę o informację, czy takie badania zostały przeprowadzone? Czy doktorantka mogłaby uzasadnić zastosowanie powyższych podłoży w kontekście celu jej

pracy? Czy takie podłoża nadają się do wytwarzania elektrod, gdyż studiując część teoretyczną pracy odniosłam wrażenie, że taki cel przyświecał autorce pracy?

Doktorantka następnie poddała szlifowaniu blaszki i pręty stalowe za pomocą papieru ściernego i uznała, że zaobserwowane rysy są korzystne, ponieważ zwiększą adhezję warstwy polimerowej do podłoża. Następnie przedstawiła wyniki badań nad doborem parametrów procesu elektropolimeryzacji, aby uzyskać warstwy polimeru o najlepszej przewodności. Na rysunku 33 przedstawiony został obraz AFM filmu polipirolowego, jednak widać na nim, że warstwa nie jest ciągła, co z resztą jest widoczne na obrazach AFM innych próbek. Czy doktorantka mogłaby to skomentować? Czy otrzymane warstwy były ciągłe i całkowicie pokrywały podłoże? Testy adhezyjne (rys. 42) wykazały słabą adhezję warstwy polipirolowej do wszystkich badanych podłoży. Czy doktorantka nie obawia się, że takie właściwości stanowią podstawę do wykluczenia opracowanych warstw w zastosowaniach biomedycznych, szczególnie do leczenia schorzeń neurologicznych, mającymi pozostawać – o ile dobrze zrozumiałam całą koncepcję dysertacji doktorskiej – w bezpośrednim kontakcie z tkankami centralnego układu nerwowego?

W dalszej części tego rozdziału autorka opisała wyniki badań nad syntezą polipirolu w obecności heparyny i w środowisku dodecylosiarczanu sodu. Badania wykazały, że heparyna wbudowała się w matrycę polimerową a największą efektywność procesu polimeryzacji oraz stabilności elektrochemicznej wykazywały warstwy otrzymane przy potencjale 0.85 V i przy 20 cyklach elektropolimeryzacji. Uzyskana warstwa była bardziej chropowata niż w poprzednim przypadku, gdy nie zastosowano heparyny. Tu nasuwa mi się pytanie o wyniki badań adhezji warstwy do podłoża – czy były one przeprowadzone dla próbek polipirolu z heparyną?

Następnie doktorantka zaprezentowała wyniki badań nad systemem dostarczania chloropromazyny, tym razem uzyskując próbki przy potencjale 0.70 V i 0.85 V i przy liczbie cykli 20 i 30, nanosząc warstwy na tlenek indowo-cynowy i na blachę stalową.

Badania wykazały, że można sterować grubością warstwy polipirolowej wzbogaconej w heparynę i chlorpromazynę a co za tym idzie ilością zamkniętej chlorpromazyny zwiększając liczbę cykli i wartość przyłożonego potencjału. Wykazano też wpływ przyłożonego potencjału na uwalnianie substancji czynnej do roztworu. Wyniki opisane w tym rozdziale zostały opublikowane w pracy pt. *Chlorpromazine–Polypyrrole Drug Delivery System Tailored for Neurological Application*, *Molecules* 2024, 29(7), 1531, której doktorantka jest pierwszą autorką.

Kolejny podrozdział został poświęcony wynikom badań nad systemem dostarczania memantyny z podobnego systemu jak omówiony powyżej. Zastanawiające są jednak wartości grubości uzyskanych warstw (Tabela 18), niższe o 2-4 rzędy wielkości niż w przypadku pozostałych badanych warstw (porównaj dane z Tabel 9, 10, 12). O ile właściwie interpretuję wyniki SEM, to wykazały one podobną morfologię warstw jak poprzednio, co wydaje się być niespójne z wynikami grubości warstw. Warstwy te wykazywały też niezbyt wysoką stabilność mechaniczną i odporność na zarysowania. Bardzo proszę o skomentowanie wyników badań nad uwalnianiem memantyny z opracowanych systemów. Czy pożądane jest uwalnianie stałych dawek memantyny przez dłuższy czas czy wręcz przeciwnie?

Ostatni opracowany system miał na celu dostarczanie amantadyny. W tym przypadku grubość warstwy przedstawiona w Tabeli 24 również jest znacznie niższa niż w systemach z heparyną czy heparyną z chlorpromazyną (porównaj dane z Tabel 9, 10, 12), chociaż mikrostruktura warstw wygląda podobnie i charakteryzuje się dużą chropowatością przed procesem uwalniania (Rys. 85). Obraz po uwalnianiu jest diametralnie różny i przedstawia bardzo gładką powierzchnię. Czy to oznacza, że doszło nie tylko do uwolnienia amantadyny i heparyny, a rozpuszczeniu uległa matryca polipirolowa?

Doktorantka badała też uwalnianie substancji leczniczych z opracowanych systemów pod wpływem przyłożonego potencjału i bez niego oraz wykazała, że uwalniają się one w przeciągu kilkudziesięciu godzin. Biorąc pod uwagę zastosowania kliniczne, czy

takie układy mogą znaleźć zastosowanie praktyczne, skoro – jak pisze doktorantka – *„Krzywe kinetycznego uwalniania warstw CPZ/HEP/PPy stabilizują się po 35 h, świadcząc o wyczerpywaniu substancji leczniczej?”* Podobne wyniki uzyskano dla pozostałych opracowanych układów.

Zastanawia mnie też celowość przeprowadzenia badań mikrobiologicznych opracowanych systemów dostarczania leków, które z założenia mają być stosowane do leczenia chorób neurologicznych. Można przypuszczać iż to, że stwierdzono, że niektóre z opracowanych systemów mają właściwości antybakteryjne mogłoby wynikać z toksyczności np. polipirolu. Czy doktorantka wykonywała badania cytotoksyczności swoich systemów na modelowych liniach komórkowych, albo czy planuje przeprowadzenie takich badań w przyszłości?

W ostatnim rozdziale doktorantka podsumowała rezultaty swoich badań i wyciągnęła wnioski, z których wynika, że ilość leków zaenkapsulowanych w matrycy polipirolowej można zwiększyć dobierając rodzaj podłoża, warunki osadzania oraz wprowadzając do układu heparynę.

Stwierdzam, że dysertacja doktorska pani mgr inż. Sary Kulik pt. *“Warstwy polimerowe oparte na pirolu jako nowoczesne systemy dozowania substancji leczniczych o aktywności neurologicznej”*, pomimo pewnych niedociągnięć, spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora w dyscyplinie inżynieria materiałowa, które są określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn.zm.). Pytania jakie stawiam w recenzji wynikają z mojej ciekawości i są zaproszeniem doktorantki do dyskusji naukowej w czasie publicznej obrony. Dlatego wnoszę o przyjęcie rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie pani mgr inż. Sary Kulik do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.