

Bydgoszcz, dn. 31.07.2023 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Histopatologiczna ocena odpowiedzi
tkankowej na produkty zużycia endoprotez stawów”**

autorstwa lek. Damiana Ruska

realizowanej w

Katedrze i Zakładzie Patomorfologii i Immunologii Klinicznej
oraz

Klinice Ortopedii Ogólnej, Onkologicznej i Traumatologii
Kolegium Nauk Medycznych

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

promotor: prof. dr hab. n. med. Grzegorz Dworacki

promotor pomocniczy: dr n. med. Waldemar Woźniak

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska pt. „Histopatologiczna ocena odpowiedzi tkankowej na produkty zużycia endoprotez stawów” porusza niezwykle ciekawe merytorycznie i potrzebne zagadnienia dotyczące wpływu produktów zużycia endoprotez na tkanki okołoprotezowe. Jest to o tyle istotne, że badania przeprowadzono na tkankach ludzkich po przeprowadzeniu rewizji endoprotezy, a więc w kontekście ich naturalnego zużycia.

Rozprawa autorstwa lek. Damiana Ruska ma typowy i właściwy układ dla rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne o charakterze eksperymentalnym. Obejmuje 98 stron maszynopisu i została podzielona na następujące rozdziały: „Wstęp”, „Cele pracy”, „Materiał”, „Metodyka”, „Wyniki”, „Dyskusja” i „Wnioski”. Rozprawa została poprzedzona „Spisem skrótów”, a zakończona „Piśmiennictwem”, „Streszczeniem w języku polskim”, „Streszczeniem w języku angielskim”, „Załącznikami”, a także „Spisem tabel” i „Spisem rycin”. „Załączniki” do pracy stanowią uzupełnienie zaprezentowanych w pracy wyników poprzez tabelaryczne przedstawienie charakterystyki populacyjnej grupy badawczej oraz wyników oceny mikroskopowej w zakresie gęstości naczyń po barwieniu immunocytochemicznym wobec CD34, gęstości nacieku

makrofagów po barwieniu immunocytochemicznym wobec CD163, a także stopnia obecności komórek wielojądrzastych, obecności lub braku nacieku limfocytów oraz martwicy.

Sposób edycji pracy nie budzi większych zastrzeżeń. Odnotowałem jedynie nieliczne błędy stylistyczne, interpunkcyjne oraz literowe. Z obowiązku recenzenta wskazuję również na brak ujęcia „Spisu skrótów” w „Spisie treści” oraz zbędne tabulatory przed odnośnikami „Spisu treści do następujących rozdziałów: „Piśmiennictwo”, „Streszczenie w języku polskim”, „Streszczenie w języku angielskim”, „Załączniki”, „Spis tabel”, „Spis rycin”.

Wstęp do pracy obejmuje swoim zakresem obszernie „Wprowadzenie” do zagadnień związanych z przedmiotem rozprawy, w tym „Odpowiedź tkankową na ciało obce”, „Produkty zużycia endoprotez”, „Histologiczną ocenę produktów zużycia endoprotez” oraz „Ocenę odpowiedzi tkankowej na produkty zużycia endoprotez”. Tekst został oparty o poprawnie dobrane i aktualne piśmiennictwo z zakresu tematyki badawczej, jest zrozumiały i daje solidną podstawę merytoryczną do lektury dalszych części rozprawy. Wskazuje również na szeroką wiedzę Doktoranta w zakresie obranej tematyki badawczej. Jednakże z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na brak wskazania źródeł w obszernych fragmentach tekstu, szczególnie w podrozdziałach: „1.1 Odpowiedź tkankowa na ciało obce”, „1.1.1 Faza zapalenia ostrego (odpowiedź wrodzona)”, „1.1.2 Dalsze etapy odpowiedzi”, „1.1.2.1 Rozejście zapalenia”, „1.1.2.2 Zapalenie przewlekłe (odpowiedź nabyta)”, „1.1.2.3 Ziarnina zapalna”, „1.1.2.4 Reakcja typu dookoła ciała obcego”, „1.1.2.5 Włóknienie”, „1.2 Produkty zużycia endoprotez”. Na uwagę zasługuje opatrzenie zagadnień wprowadzających w zagadnienia części doświadczalnej pracy autorskimi zdjęciami mikroskopowymi. W tym miejscu zwracam jednak uwagę na fakt, że odcinki pomiarowe są bardziej precyzyjne w zakresie odzwierciedlenia powiększenia obrazu mikroskopowego, niż samo wskazanie powiększenia całkowitego mikroskopu w konfiguracji użytej do sfotografowania danego fragmentu preparatu.

Cel badawczy został poprzedzony przez Doktoranta założeniem, że reakcje zapalne tkanek pseudotorebki wokół endoprotez stawu biodrowego i stawu kolanowego związane są z ich użytkowaniem i spowodowane są obecnością uwalnianych w trakcie pracy artkulacji endoprotezy produktów zużycia. W związku z czym, nasilenie oraz przebieg powinny zależeć od rodzaju uwalnianych produktów, rodzaju implantu, sposobu mocowania, a także od osobniczych właściwości układu odpornościowego pacjentów i powinna nasilać się w miarę

czasu użytkowania endoprotezy. Stąd głównym celem pracy była ocena odpowiedzi tkanek okołoprotezowych na produkty zużycia endoprotez stawu biodrowego i stawu kolanowego u pacjentów, u których wymagane było przeprowadzanie rewizji endoprotezy. Jako cele szczegółowe Doktorant wskazał ustalenie typu odpowiedzi makrofaga, ich gęstości i redystrybucji tkankowej oraz ustalenie zależności między gęstością makrofagów wykazujących ekspresję CD163 a gęstością naczyń w tkankach okołoprotezowych oraz ustalenie zależności każdego z powyższych czynników a: (1) rodzajem artkulacji, (2) wiekiem, płcią oraz BMI pacjenta w chwili rewizji, (3) czasem, jaki upłynął od implantacji do rewizji, (4) rodzajem implantu, oraz (5) rodzajem stawu.

Rozprawa doktorska lek. Damina Ruska została bardzo dobrze zaplanowana, a dobrane przez Doktoranta techniki badawcze, opisane w rozdziale „Metodyka”, pozwoliły na zrealizowanie wszystkich założonych szczegółowych celów badawczych i weryfikację początkowych założeń. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 496/19 z dnia 11 kwietnia 2019 r.). Materiał badawczy stanowiły tkanki okołoprotezowe pobrane w czasie operacji rewizyjnych chorych operowanych w Klinice Ortopedii Ogólnej, Onkologicznej i Traumatologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 2014-2021. Wstępne kryteria pracy spełniły materiały pobrane od 129 pacjentów, jednakże po ocenie histopatologicznej ostatecznie do badania zakwalifikowano próbki tkanek pochodzące od 75 pacjentów. W kontekście opisu metod, z obowiązku recenzenta, wskazuję brak numerów LOT wykorzystanych w badaniu przeciwciał, które są niezwykle istotne z punktu widzenia powtarzalności uzyskanych wyników, nawet jeśli zostały wskazane klony oraz numery katalogowe. Opis metod badawczych został uzupełniony autorskimi rycinami prezentującymi reprezentatywne zdjęcia mikroskopowe preparatów po barwieniu immunohistochemicznym, etapy analizy mikrografii przy użyciu programu imageJ, obrazy spod skaningowego mikroskopu elektronowego oraz wykresu składu pierwiastkowego cząstki z tkanki okołoprotezowej endoprotezy ceramicznej.

Badania podjęte przez Doktorantka zostały opisane w rozdziale „Wyniki”. Opis wyników został poparty czytelnymi tabelami prezentującymi dane liczbowe oraz rycinami przedstawiającymi wykresy. Do najistotniejszych należy wykazanie, że użytkowanie przez pacjentów każdego typu badanych endoprotez wiąże się z reakcją zapalną na ciało obce.

W ocenianych przez Doktoranta tkankach rutynowo obserwowano aktywowane makrofagi M2. Warto wskazać, że nie odnotowano przypadków z brakiem reakcji zapalnej, co wskazuje, że stosowane w endoprotezach materiały nie są w pełni biozgodne. Jakość prezentacji wyników oraz kompletność ich prezentacji podniosłoby zaprezentowanie rezultatów badania SEM/EDS, zwłaszcza w kontekście mapowania tkankowego.

Otrzymane wyniki zostały omówione przez Doktoranta w kontekście doniesień literaturowych w rozdziale „Dyskusja”. Rozdział ten jest napisany rzeczowo, merytorycznie i obejmuje najistotniejsze zagadnienia związane z przeprowadzonymi badaniami i zakresem przedmiotowym rozprawy.

Część merytoryczną pracy kończą cztery wnioski, które odzwierciedlają główny cel pracy oraz cele szczegółowe podjętych badań: (1) Parametrem, który istotnie wpływał na charakter procesu zapalnego w obrębie pseudosynowium był w głównej mierze rodzaj obecnych w tkankach produktów zużycia endoprotezy. Największy stopień biokompatybilności wykazały przy tym endoprotezy z artykulacją ceramika-ceramika; (2) Nie stwierdzono istotnych różnic między nasileniem procesu zapalnego oraz gęstości sieci naczyń wokół endoprotez stawu kolanowego oraz stawu biodrowego, co wskazuje, że sposób mocowania endoprotezy nie ma wpływu na nasilenie odczynu zapalnego; (3) Wiek, płeć oraz BMI pacjenta w chwili rewizji nie miały w istotny sposób wpływu na nasilenie reakcji zapalnej i tworzenia naczyń w tkankach okołoprotezowych; (4) Czas od implantacji do momentu rewizji nie wpływał na gęstość naczyń oraz gęstość nacieku z makrofagów. W związku z tym nie ma istotnych wskazań do nadzoru nad protezą w konkretnych punktach czasowych w miarę zużycia protezy.

W podsumowaniu recenzji wskazuję, że ujęte w rozprawie doktorskiej wyniki są przydatne z punktu widzenia podjętej problematyki badawczej i mogą zostać wykorzystane w badaniach aplikacyjnych. Doktorant pokazał, że potrafi samodzielnie rozwiązać problem naukowy oraz wykorzystać dostępny warsztat naukowy. Potrafi również przeprowadzić dyskusję swoich wyników z wynikami innych grup badawczych. Wskazane przeze mnie niedoskonałości pracy nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy. Stąd jednoznacznie stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Damiana Ruska pt. „Histopatologiczna ocena odpowiedzi tkankowej na produkty zużycia endoprotez stawów” spełnia wymagania określone



w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2018 r. poz. 1668, z późn. zm.). Dlatego wnioskuję do Wysokiej Kapituły Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lek. Damiana Ruska do dalszych etapów postępowania doktorskiego. Ponadto, z uwagi na wysoki charakter poznawczy pracy, jakość przeprowadzonych badań, a także istotność przeprowadzonej analizy w kontekście możliwości jej wykorzystania aplikacyjnego, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

dr hab. n. med. i n. o zdr. Maciej Gagat, prof. UMK