UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO
W POZNANIU
KATEDRA I KLINIKA DERMATOLOGII
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Zygmunt Adamski

Adres :
ul. Przybyszewskiego 49
60-355 Poznań

tel. (0-61) 869-12-85, 869-16-12
fax. (0-61) 869-15-72
e-mail: dermatologia@spsk2.pl

Poznań, 27.12.2016

dr hab. med. Agnieszka Osmola-Mańkowska
Katedra i Klinika Dermatologii
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49
60-355 Poznań

RECENZJA
Rozprawy doktorskiej Pana magistra Marka Konopa pt. „Wpływ keratynowych bioopatrunków na proces gojenia ran chirurgicznych u myszy zdrowych i z jatrogennie wywołaną cukrzycą", wykonanej w Zakładzie Neuropeptydów Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie pod kierunkiem prof. dr hab. med. Lidii Rudnickiej, promotor pomocniczy dr n. med. Joanna Czuwara

Materiał źródłowy

Materiał źródłowy do opracowania niniejszej recenzji stanowił oprawiony maszynopis dysertacji doktorskiej pt. „Wpływ keratynowych bioopatrunków na proces gojenia ran chirurgicznych u myszy zdrowych i z jatrogennie wywołaną cukrzycą", obejmujący 173 strony w tym 59 rycin, 26 tabel oraz 206 pozycji piśmiennictwa.
Praca została napisana w strukturze numerowanych rozdziałów, typowej dla rozpraw doktorskich. Zawiera następujące części: wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję i wnioski oraz streszczenia w języku polskim i angielskim, a także dodatkowo krótki życiorys doktoranta, wykaz stosowanych skrótów, spis rycin i tabel.

Ocena merytoryczna

Jako klinicyści w codziennej praktyce spotykamy wiele rodzajów ran. Leczenie ran przewlekłych jest szczególnie trudne i wciąż niedoskonałe. Proces gojenia ran jest bardzo złożony a ponadto wiele czynników może go modyfikować. Poszukiwanie

opatrunku „idealnego" jest bardzo ważnym przedsięwzięciem ale również stawia przed badaczem ogromne wyzwanie. Doktorant podjął temat bardzo ciekawy i ambitny ale również niezwykle praktyczny.

1. Wstęp

Wstęp rozprawy składający się z kilku podrozdziałów, stopniowo wprowadza czytelnika w tematykę omawianego zagadnienia. Doktorant wyczerpująco przedstawia definicję, rodzaje, mechanizm gojenia ran, czynniki wpływające na ten proces, takie jak między innymi cukrzyca. Szczególnie ważny w kontekście planowanych badań jest podrozdział podkreślający różnice w budowie i fizjologii skóry mysiej i ludzkiej. Autor przybliża również aktualnie dostępne leki i opatrunki a także rolę inżynierii tkankowej
i medycyny regeneracyjnej w leczeniu ran przewlekłych. Część ta konsekwentnie prowadzi do sformułowania założeń i celów pracy.

2. Cel pracy

Celem głównym pracy było pozyskanie biomateriałów na bazie białek współwystępujących z keratyną oraz analiza ich wpływu na proces gojenia się ran na modelu mysim. Cele szczegółowe stanowiły: opracowanie metody pozyskiwania białek keratynowych z naturalnych substratów (sierść mysia i włosy ludzkie) oraz wykorzystanie ich jako bio-opatrunków, określenie wpływu białek keratynowych na wybrane parametry gojenia ran chirurgicznych u myszy zdrowych i z jatrogennie wywołaną cukrzycą, zbadanie wpływu modyfikowanych opatrunków keratynowych poprzez ich wzbogacenie w związki o właściwościach wpływających na proces gojenia ran (koloidalne nanocząsteczki srebra, opioidy, glutation).

Koncepcja pracy jest właściwa a cele czytelnie wskazują kierunki planowanych badań.

3. Materiały i metody

Badanie miało charakter dwuetapowy.

W części pierwszej przeprowadzono badania fizyko-chemiczne otrzymanych preparatów keratynowych. Materiał do badania stanowiła sierść mysia szczepu C57BL6/J
i włosy ludzkie męskie, pochodzące z salonu fryzjerskiego. Preparaty keratynowe pozyskano na podstawie metody opracowanej przez prof. Andrzeja W. Lipkowskiego na drodze chemicznej aktywacji i enzymatycznego trawienia z zastosowaniem

prostych nietoksycznych odczynników chemicznych a następnie poddane trawieniu enzymami proteolitycznymi. Morfologię otrzymanych produktów oceniano przy pomocy elektronowego mikroskopu skaningowego. Pozyskane preparaty keratynowy zostały ostatecznie poddane procesowi liofilizacji.

Drugi etap badań stanowiły badania biologiczne. Wyjściowo zbadano wpływ preparatu keratynowego na żywotności komórek linii NIH/T3T wywodzącej się z fibroblastów mysich. Do badania żywotności komórek wykorzystano test kolorymetryczny MTS. Kolejne badania prowadzone były na modelu zwierzęcym. Na wszystkie badania na zwierzętach uzyskano zgodę IV Lokalnej Komisji ds. Badań na Zwierzętach nr 58/2012 przy Narodowym Instytucie Leków. Badania in vivo przeprowadzono na 200 samcach myszy szczepu C57BL6/J. U 180 zwierząt indukowano jatrogenną cukrzycę z zastosowaniem dootrzewnowym streptozocyny. Grupę kontrolną stanowiło 20 zwierząt. Następnie wytwarzano symetrycznie na plecach zwierząt dwie rany chirurgiczne. Na jedną z nich aplikowano jednorazowo badany opatrunek w postaci zasypki a druga rana stanowiła kontrolę. Na podstawie dokumentacji fotograficznej obliczano procent wygojenia ran w 0, 7 i 14 dniu eksperymentu. Dodatkowo w tych samych punktach czasowych pobierano biopsje tkankowe do badań histochemicznych i immunohistochemicznych. Ostatecznie oceniano wpływ badanych opatrunków na szybkość gojenia rany, odczyn zapalny, wysięk, wynaczynienie erytrocytów, morfologię komórek, naskórkowanie, odtwarzanie owłosienia i wytwarzanie blizny oraz podścielisko rany. Badaniu poddano siedem rodzajów opatrunków: pięć na bazie mysich białek, w tym cztery dodatkowo wzbogacone o nanocząsteczki srebra, pochodne morfiny tj. bifalina i kazomorfina, hydrolizat oraz dwa na bazie białek ludzkich w tym jeden z dodatkiem glutationu.

Uzyskane wyniki badań poddano rzetelnej analizie statystycznej.

Narzędzia badawcze zostały dobrane prawidłowo, pozwalając na realizacje postawionych celów badawczych.

4. Wyniki

Wyniki przeprowadzonych badań zostały przedstawione w formie opisowej i tabelarycznej oraz wzbogacone o liczne ryciny: wykresy i fotografie.

Zostały one przedstawione konsekwentnie i w miarę możliwości syntetycznie pod względem merytorycznym i graficznym. Uzyskane wyniki odpowiadają postawionym celom badawczym pracy.

5. Dyskusja

Dyskusja przedstawiona została na 15 stronach. Dowodzi ona gruntownej wiedzy dotyczącej omawianego zagadnienia, aktualnego piśmiennictwa oraz umiejętności interpretacji wyników własnych w odniesieniu do danych z literatury. Dyskusja została przeprowadzona logicznie i konsekwentnie.

6. Wnioski

Rozprawę wieńczą wnioski wynikające z uzyskanych wyników i odpowiadające na postawione cele badawcze. Opracowana metoda pozwoliła na pozyskanie opatrunków na bazie białek keratynowych z naturalnych surowców (sierść mysia i włosy ludzkie). Ponadto opatrunki te były dobrze tolerowane co świadczy o ich biokompatybilności tkankowej. Rany opatrzone badanymi opatrunkami charakteryzowały się szybszym naskórkowaniem
i zmniejszeniem powierzchni rany zarówno u myszy zdrowych jak i z jatrogennie wywołaną cukrzycą. Modyfikacja opatrunków szczególnie polegająca na wzbogaceniu o związek 0,1% kazomorfiny powodowała przyspieszenie gojenia rany. Badane opatrunki były bezpieczne i wpływały korzystnie na proces gojenia ran na eksperymentalnym modelu zwierzęcym co potwierdza ważną rolę keratyn w tym procesie.

7. Piśmiennictwo

Piśmiennictwo jest bardzo bogate, obejmuje 206 trafnie wybranych pozycji, z czego znaczną większość stanowi aktualne piśmiennictwo zagraniczne.

Podsumowanie i uwagi końcowe

Rozprawa doktorska stanowi bardzo ciekawe, wyczerpujące i przede wszystkim praktyczne opracowanie ważnego zagadnienia. Daje jednoczenie podstawy do dalszego rozwijania tego tematu.

Układ pracy jest przejrzysty, plan badania przemyślany, wyniki zostały przedstawione rzetelnie a następnie logicznie przeanalizowane. Ponadto Doktorant wykazał się dbałością o estetykę i poprawność językową w przygotowaniu manuskryptu.

Przedstawiona praca spełnia kryteria określane w ustawie o tytułach i stopniach naukowych co upoważnia mnie do przedłożenia wniosku Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Agnieszka Osmola-Mańkowska

dr hab. n. med.
Agnieszka Osmola-Mańkowska
specjalista dermatolog i wenerolog
7568531

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO
W POZNANIU
KATEDRA I KLINIKA DERMATOLOGII
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Zygmunt Adamski

Adres :
ul. Przybyszewskiego 49
60-355 Poznań

tel. (0-61) 869-12-85, 869-16-12
fax. (0-61) 869-15-72
e-mail: dermatologia@spsk2.pl

Poznań, 27.12.2016

dr hab. med. Agnieszka Osmola-Mańkowska
Katedra i Klinika Dermatologii
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49
60-355 Poznań

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE
Rozprawy doktorskiej Pana magistra Marka Konopa pt. „Wpływ keratynowych bioopatrunków na proces gojenia ran chirurgicznych u myszy zdrowych i z jatrogennie wywołaną cukrzycą", wykonanej w Zakładzie Neuropeptydów Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie pod kierunkiem prof. dr hab. med. Lidii Rudnickiej, promotor pomocniczy dr n. med. Joanna Czuwara

Przedstawioną rozprawę oceniam wysoko. Zawarte w niej koncepcje badawcze są nowatorskie. Opisany eksperyment został skrupulatnie zaplanowany a przeprowadzone badania były bardzo czasochłonne i wymagały od doktoranta dużego zaangażowania. Uzyskane wyniki wnoszą nowe informacje i mogą stać się podstawą do dalszego rozwijania tego zagadnienia a ostatecznie mieć implikacje kliniczne. Ponadto warto zaznaczyć, że uzyskane oryginalne wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania. W związku z powyższym wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej magistra Marka Konopa.

Agnieszka Osmola-Mańkowska

dr hab. n. med.
Agnieszka Osmola-Mańkowska
specjalista dermatolog i wenerolog
7568031