

Warszawa 13.12.2021

## Ocena rozprawy doktorskiej mgr Adrany Muchowskiej

**nt. „Wpływ wybranych związków hybrydowych zaadsorbowanych na preparatach keratynowych na proces gojenia ran w szczurzym modelu cukrzycy indukowanej streptozotocyną”.**

Cukrzyca należy do grupy chorób metabolicznych, charakteryzujących się hiperglikemią wynikającą z deficytu wydzielania lub działania insuliny. Badania epidemiologiczne ujawniają, że zaburzenia gospodarki węglowodanowej występują u prawie 14% populacji. Cukrzyca typu 2 występuje u 5,6% populacji polskiej. Współcześnie cukrzycę zalicza się do chorób cywilizacyjnych. Cukrzyca prowadzi do powstania szeregu zarówno ostrych jak i przewlekłych powikłań. Przewlekła hiperglikemia w cukrzycy powoduje uszkodzenie, zaburzenia czynności i niewydolność różnych narządów szczególnie: oczu (retinopatia), nerek (nefropatia), serca (choroba wieńcowa), naczyń krwionośnych (makro i mikroangiopatie) oraz nerwów (neuropatie). Uszkodzenie w cukrzycy tkanki nerwowej jest wynikiem dysfunkcji śródbłonna i zmianami strukturalnymi w *vasa nervorum* – niedotlenienia w zakresie unerwienia tętniczek odżywiających nerwy, stresu oksydacyjnego, lipotoksyczności oraz działania prozapalnych cytokin. Czynnikiemmi zwiększającymi ryzyko rozwoju neuropatii są: wahania glikemii, otyłość, zaburzenia lipidowe, hipertrójglicerydemia, palenie papierosów i nadciśnienie tętnicze. Uszkodzenia zachodzą we wszystkich rodzajach włókien nerwowych zarówno czuciowych, ruchowych, jak i we włóknach autonomicznych.

Najczęstszą postacią neuropatii cukrzycowej jest przewlekła symetryczna dystalna polineuropatia czuciowo-ruchowa. Występuje ona u prawie 50% chorych z cukrzycą, w tym u prawie 20% chorych już w chwili postawienia rozpoznania. Objawy najczęściej dotyczą stóp i kończyn dolnych, ale w ciężkich przypadkach mogą

również obejmować dłonie. Objawy zarówno pozytywne – wywołane narastającą aktywnością układu nerwowego takie jak: ból samoistny, alodynia, hiperalgezia, dyzestezie, parestezie oraz negatywne – wywołane przez zaburzenie funkcji struktur nerwowych takie jak: hipoestezja, hiperalgezia, hiperpatia i *anaesthesia dolorosa* (znieczulica bolesna) postępują dośrodkowo. U 2/5 chorych dolegliwości bólowe mają natężenie > 5 punktów w skali oceny bólu NRS. Najczęściej odczuwanymi objawami są: piekące bóle, uczucie „przepływu prądu”, parestezie (mrowienie), dyzestezie (pieczenie), przeczulica dotykowa oraz głęboki, tępy ból. Przewlekła symetryczna dystalna polineuropatia czuciowo-ruchowa ma skryty początek i wielu pacjentów nie odczuwa jej objawów, co naraża ich na mikro-urazy stóp i powstawanie owrzodzeń i inne późne powikłania obejmujące neuroartropatie *Charotta*, a nawet na amputacje kończyny. Deficyt neurologiczny często stwierdza się przypadkowo podczas rutynowego badania lekarskiego. Pacjenci mogą nie zgłaszać objawów spontanicznie, ale zapytani zwykle zgłaszają objawy drętwienia stóp. Do objawów polineuropatii zaliczamy również zaburzenia równowagi, będące odzwierciedleniem zaburzeń czucia ułożenia a być może także nieprawidłowego działania receptorów czuciowych zlokalizowanych w mięśniach. Zaburzenia równowagi zwiększają dodatkowo ryzyko upadków i urazów kończyn przyczyniając się do i tak już wysokiego (spowodowanego zaburzeniami czucia wibracji, dotyku, bólu i temperatury oraz braku odruchów skokowych) narażenia na uszkodzenia stóp i ryzyko rozwoju stopy cukrzycowej. Przy współistnieniu polineuropatii u chorego z cukrzycą 7 krotnie wzrasta ryzyko powstawania owrzodzeń a co za tym idzie również ryzyko amputacji.

W leczeniu priorytetowe znaczenie ma profilaktyka, właściwe skuteczne leczenie choroby podstawowej i wszystkich jej powikłań, leczenie nadciśnienia, redukcja otyłości, unikanie palenia papierosów, korygowanie zaburzeń lipidowych, szczególna ochrona stóp przed urazami/uszkodzeniami, objawowe leczenie neuropatii (gabapentyna/pregabalina, duloksetyna) i leczenie miejscowe owrzodzeń stóp.

Do tej pory nie opracowano jeszcze idealnego opatrunku do leczenia trudno gojących się ran, dlatego ciągle prowadzi się badania nad opracowaniem nowych sposobów terapii. Jedną z nowszych i innowacji jest opatrunek na bazie keratyny. Doktorantka kontynuuje badania ś.p. Profesora Andrzeja Lipkowskiego. Kolejnym rodzajem badań nad leczeniem trudno-gojących się ran cukrzycowych to

poszukiwania substancji przyspieszających gojenie. Do takich substancji zaliczana jest między innymi substancja P (mająca wpływ na angiogenezę, neurogenną odpowiedź zapalną i proliferację/wzrost komórek) oraz peptydy opioidowe. Receptory opioidowe ulegają ekspresji w komórkach skóry, zwłaszcza w stanie zapalnym. Ze względu na udział receptorów opioidowych, jak i samych opioidów w łagodzeniu bólu a także obecność receptorów opioidowych w obrębie skóry daje mocne podstawy do badań naukowych nad zastosowaniem peptydów opioidowych do inkrustowania nimi opatrunków mających przyspieszyć proces gojenia ran.

Do tych niezwykle interesujących i ważnych zagadnień odnosi się Doktorantka w swojej pracy doktorskiej.

Rozprawa zawiera 110 stron, 32 ryciny i 4 tabele. Praca ma układ typowy dla tego typu opracowań. Podzielona została na 6 rozdziałów, ponadto zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim, spis piśmiennictwa - 133 starannie dobrane pozycje, w tym ponad 20% stanowi piśmiennictwo z ostatnich 5 lat oraz wykaz ważniejszych skrótów i nazw używanych w pracy.

Wstęp pracy, przedstawiony na 27 stronach, zapoznaje czytelnika z problematyką dotyczącą częstego przewlekłego powikłania cukrzycy jakim jest stopa cukrzycowa. Omawia epidemiologię, patomechanizm i powikłania do jakich prowadzi stopa cukrzycowa. Szeroko omawia podstawy fizjologiczne gojenia ran oraz patofizjologię modelu zwierzęcego rany cukrzycowej. Opisuje sposoby leczenia trudno gojących się ran, oraz tłumaczy podstawy teoretyczne zastosowania związków hybrydowych zaadsorbowanych na keratynocytach na proces gojenia rany cukrzycowej. Należy podkreślić, że zagadnienia te zostały omówione w sposób bardzo szczegółowy i zgodnie ze współczesną wiedzą medyczną.

Celem recenzowanej pracy była ocena wpływu dwóch wybranych związków hybrydowych zaadsorbowanych na keratynocytach na proces gojenia ran w szczurzym modelu cukrzycy indukowanej streptozotocyną

Badaniem objęto 95 6-7 tygodniowych samców szczurów rasy *Wistar* o ciężarze ciała 225 g (+/- 17.5 g), które podzielono na 6 grup (3 grupy badawcze i 3 grupy kontrolne). W rozdziałach „Materiał i Metody” przedstawiono w sposób czytelny i przekonujący metodologię przeprowadzonych badań (powód wyboru konkretnego zwierzęcia do badań, sposób wywołania cukrzycy u szczura, wyindukowanie i obserwacja rany, pobieranie materiału do badań

histopatologicznych i immunohistochemicznych oraz wykonanie tych badań) co warunkuje istotną wartość i rzetelność wyników oraz opisano główne kierunki analizy wyników przeprowadzonych badań. Ponadto w tych rozdziałach znajdują się szczegółowe opisy metodyki obliczeń statystycznych. Zarówno oceniane parametry, jak i metody statystyczne, wykorzystane w badaniach Doktorantki, zostały wybrane prawidłowo, a ich zastosowanie warunkowało uzyskanie wiarygodnych wyników. Należy podkreślić, iż o bardzo dużej wartości poznawczej przeprowadzonych badań stanowi także fakt, że Doktorantka dokonała analizy porównawczej parametrów ważnych także dla praktyki klinicznej.

W świetle powyższych rozważań, uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań są bardzo interesujące, bowiem wykazała Ona, że obie badane substancje użyte do inkrustowania opatrunków keratynowych poprawiały statystycznie znamienne proces gojenia rany. Należy podkreślić, że wyniki tych badań są bardzo ważne dla praktyki klinicznej i mam nadzieję, że w niedalekiej przyszłości wyniki badań Doktorantki znajdą zastosowanie kliniczne w leczeniu stopy cukrzycowej u ludzi dotkniętych tą chorobą, przyczyniając się do poprawy jakości ich życia, zmniejszając również ryzyko dalszych powikłań stopy cukrzycowej w tym ryzyko amputacji.

Pragnę podkreślić, że interpretację wyników Doktorantka przeprowadziła bardzo starannie i rzetelnie. Dyskusja jest napisana poprawnie i co najistotniejsze – przejrzysto, a czyta się ją z dużą przyjemnością. Doktorantka logicznie interpretuje uzyskane w badaniach własnych wyniki w oparciu o „bardzo szeroko” cytowane pozycje aktualnego piśmiennictwa. Wysłane przez Doktorantkę wnioski są spójne z postawionym celami pracy oraz wynikami przeprowadzonych badań. Rozprawa doktorska jest napisana poprawnym językiem w sposób przejrzysty i zrozumiały, a Doktorantka wykazała się umiejętnością zaprogramowania badań i ich przeprowadzenia w oparciu o właściwą metodykę, umiejętnością interpretowania uzyskanych wyników i posługiwania się piśmiennictwem. Całość rozprawy doktorskiej oceniam bardzo wysoko. Oceniana przeze mnie Rozprawa Doktorska wnosi bardzo istotne elementy zarówno poznawcze, jak i ważne z punktu widzenia praktyki klinicznej.

Uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Adrianny Muchowskiej nt. **„Wpływ wybranych związków hybrydowych zaadsorbowanych na preparatach keratynowych na proces gojenia ran w**

***szczurzym modelu cukrzycy indukowanej streptozotocyną***” spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 60, poz. 595, z późn. zm.), przeto mam zaszczyt wnieść do Wysokiej Rady Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN o dopuszczenie mgr Adrianny Muchowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Bardzo czytelna i wielokierunkowa analiza uzyskanych wyników, rzetelna ich ocena, poznawcza wartość uzyskanych wyników oraz pionierski, w skali naszego kraju, charakter badań skłaniają mnie do złożenia wniosku o wyróżnienie tej pracy przez Wysoką Radę Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN.

Dr hab. n med. Małgorzata Malec-Milewska, prof. CMKP

