

21. 03. 2023

Białystok, 13.03.2023

Prof. dr hab. n.med. Maria Górską

OCENA**ROZPRAWY DOKTORSKIEJ****LEK. MATEUSZA MIECZKOWSKIEGO****PT. "TRANSLACJA WYNIKÓW BADAŃ NAD ZWIERZĘCYMI MODELAMI RAN
NA ICH ZASTOSOWANIE W PRAKTYCE KLINICZNEJ GOJENIA RAN
U PACJENTÓW Z CUKRZYCĄ"**

Przewlekła hiperglikemia jest głównym czynnikiem prowadzącym do uszkodzenia drobnych naczyń włosowatych i przedwłosowatych czyli tzw. angiopatii cukrzycowej oraz czynnikiem przyspieszającym znacznie rozwój miażdżycy. Zmiany te prowadzą do wielu uszkodzeń narządowych zwanych przewlekłymi powikłaniami cukrzycy. Należy do nich między innymi neuropatia cukrzycowa i zespół stopy cukrzycowej. Patomechanizm rozwoju zespołu stopy cukrzycowej jest złożony. Powstające przewlekłe rany mają różną lokalizację i różne są przyczyny ich rozwoju. Taka sytuacja utrudnia ocenę wyników leczenia a zwłaszcza porównywanie skuteczności różnych sposobów leczenia zespołu stopy cukrzycowej. Dlatego też interesujące i ważne wydaje się stworzenie jednolitego modelu ran przewlekłych

w cukrzycy, pozwalające oceniać efekty różnych metod leczenia. Tego nietatwego zadania podjął się lekarz Mateusz Mieczkowski. Wyniki swoich badań i przemyśleń przedstawił w trzech publikacjach składających się na rozprawę doktorską. Są to dwie prace oryginalne i jedna pogładowa. W dwóch z nich Doktorant jest pierwszym, w jednej drugim autorem. Łączny impact factor tych publikacji wynosi 9,457 a punktacja MEiN 246. Badania rozpoczęto w 2015 roku i były one finansowane z Grantu Studenckiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Wstępne wyniki badań przedstawiono w pracy pt. " Nowy model ran przewlekłych w cukrzycy - badanie pilotażowe u szczurów rasy Wistar ... Jest to pierwsza publikacja z cyklu składającego się na rozprawę doktorską . We wstępie do tej pracy autorzy przedstawiają trudności w tworzeniu zwierzęcego modelu ran przewlekłych i odwzorowaniu warunków powstawania przewlekłych powikłań naczyniowych typowych dla cukrzycy. Do badań wybrano szczury rasy Wistar. Cukrzycę wywoływano u zwierząt podając streptozotocynę w dawce 38mg/kg masy ciała. Wybrano ten model ze względu na prosty schemat, stosunkowo niewielką toksyczność i możliwość uzyskiwania podobnych, powtarzalnych glikemii. Do dalszych badań wybierano zwierzęta ze średnia glikemią 250-350mg/dl. Wystąpienie neuropatii oceniano przez ocenę czucia bodźca mechanicznego przy użyciu analgezymetru Ugo Basile. Zmiany wskazujące na uszkodzenie nerwów występowały szybko, bo już po 7 dniach obserwacji. Na grzbietowej części skóry wykonano skaryfikację o powierzchni 1,5x2,5 cm. Rany ostrzykiwano roztworem liposacharydu otrzymanego z *Pseudomonas aeruginosa* celem wytworzenia przewlekłego stanu zapalnego. Obserwację ran prowadzono z użyciem kamery termowizyjnej. Rany były zabezpieczone odpowiednimi opatrunkami. Zastosowanie termowizji pozwoliło na dokładna ocenę pola powierzchni rany oraz analizę rozkładu temperatur na powierzchni rany i w jej otoczeniu. W przedstawionym w niniejszej publikacji badaniu u części zwierząt zastosowano insulinę uzyskując obniżenie stężeń glukozy co oczywiście spowodowało szybsze gojenie się ran. Ta obserwacja nie

stanowiła jednak głównego celu pracy. Jest to typowa praca metodyczna, której autorzy starali się stworzyć w swoich doświadczeniach warunki jak najlepiej odtwarzające obraz ran przewlekłych w zespole stopy cukrzycowej u pacjentów z cukrzycą. W znacznej mierze cel ten osiągnięto. W dyskusji bardzo rzetelnie przedstawiono również różnice w gojeniu się ran u ludzi i szczurów. Opracowany model może stać się narzędziem do oceny różnych sposobów leczenia ran przewlekłych. Jego szczególną zaletą jest powtarzalność i standaryzacja warunków.

Model ten został wykorzystany w kolejnym badaniu. Wprowadzono kolejne modyfikacje wszywając silikonowy krążek stabilizujący ranę. Krążek miał zapobiegać kontrakcji *musculus panniculus carnosus* co poprawiało standaryzację doświadczalnych ran. Celem tego badania było ustalenie, czy sposób leczenia cukrzycy ma wpływ na gojenie się ran. Do doświadczenia wybrano najdłużej i najczęściej stosowane w leczeniu cukrzycy leki: insulinę i metforminę. Wyniki zostały przedstawione w pracy pt. „Insulin, but not metformin, supports wound healing process in rats with streptozotocin – induced diabetes”. Jest to druga praca oryginalna składająca się na rozprawę doktorską. Ponieważ lekarz Mateusz Mieczkowski postawił sobie pytanie, czy leki stosowane w leczeniu cukrzycy mają wpływ na gojenie się rana poza poprawą kontroli glikemii, doświadczenie przeprowadzono w warunkach hiperglikemii porównywalnej we wszystkich grupach badanych zwierząt. Jednocześnie ten model odtwarza sytuację rany przewlekłej u pacjenta ze źle kontrolowaną cukrzycą. Wyniki badania wykazały, że insulina niezależnie od wpływu na glikemię korzystnie wpływa na gojenie się ran. Powierzchnia rany w grupie zwierząt otrzymujących insulinę była istotnie statystycznie mniejsza niż w grupie otrzymującej metforminę oraz w grupie zwierząt stanowiących kontrolę. Wykazano również w preparatach histologicznych istotnie większą proliferację w grupie zwierząt leczonych insuliną w porównaniu ze zwierzętami otrzymującymi metforminę i sól fizjologiczną, czego dowodem była zwiększona ekspresja antygenu Ki67. Wyniki

doświadczenia potwierdzają obserwacje kliniczne wskazujące na korzystne działanie insuliny w leczeniu stopy cukrzycowej. Lekarz Mateusz Mieczkowski przedstawia takie dane kliniczne w dyskusji pracy. Omawia również mechanizmy działania insuliny i metforminy, które mogą wpływać na gojenie ran. Metformina, znakomity lek o pleiotropowym działaniu, między innymi antyproliferacyjnym, wykorzystywanym w terapii przeciwnowotworowej, nie jest korzystna w procesie gojenia ran.

Ostatnia w cyklu praca to obszerna praca przeglądowa pt. "The Problem of Wound Healing in Diabetes – From Molecular Pathways to the Design of an Animal Model", opublikowana w International Journal of Molecular Sciences. We wstępie Doktorant omawia epidemiologię powikłań cukrzycowych kładąc szczególny nacisk na występowanie zespołu stopy cukrzycowej. Następnie przedstawia mechanizmy rozwoju przewlekłych ran w cukrzycy. Szczegółowo dyskutuje molekularne mechanizmy uszkodzenia naczyń krwionośnych, endoteliopatię związaną z hiperglikemią. W tej części pracy omówione są również mechanizmy prowadzące do uszkodzenia nerwów i rozwoju neuropatii cukrzycowej a następnie mechanizmy prowadzące do zmian funkcjonowania układu odpornościowego - immunopatii związanej z hiperglikemią. Zmiany te mają istotny wpływ na powstawanie i gojenie się ran. Kolejny podrozdział dotyczy mechanizmów rozwoju miażdżycy naczyń w przebiegu cukrzycy. Autor przytacza klasyczne mechanizmy rozwoju miażdżycy, rolę dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, mechanizmy subklinicznego procesu zapalnego, czy też rolę aktywacji receptorów toll – like. W tym podrozdziale znalazły się również dane dotyczące roli pentaksyn w rozwoju miażdżycy i procesie gojenia się ran. Dalej Doktorant analizuje również rolę metaloproteinaz, katepsyny, mastocytów i czynników krzepnięcia zarówno w rozwoju zmian miażdżycowych w naczyniach jak i procesie gojenia się ran. Ta publikacja stanowi więc bardzo szczegółowy przegląd oparty o aktualne piśmiennictwo. Ostatnia część pracy poświęcona jest przedstawieniu modeli zwierzęcych cukrzycy i

przewlekłych ran i porównaniu tych modeli z ranami obserwowanymi w zespole stopy cukrzycowej u ludzi. Autor krytycznie analizuje tu możliwość przenoszenia obserwacji z modeli zwierzęcych na sytuacje kliniczne u ludzi. Praca jest bardzo dobrze, klarownie napisana, zawiera dużo ważnych informacji opartych o 141 pozycji piśmiennictwa. Dodatkową zaletą tej pracy są bardzo dobrze zaprojektowane ryciny.

Podsumowanie.

Trzy przedstawione jako rozprawa doktorska publikacje tworzą zwarta logiczną całość. Doktorantowi udało się stworzyć dobry, powtarzalny model rany mający wiele cech rany w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej u ludzi. Doktorant dowiódł, że zastosowanie konkretnego leku przeciwcukrzycowego ma wpływ na gojenie się rany przewlekłej niezależnie od wpływu na glikemię. Opracowany model może służyć do badań innych, nowych leków stosowanych w leczeniu cukrzycy czy też nowych cząsteczek przyspieszających gojenie ran. Wyniki dotychczasowych i ewentualnych przyszłych badań z zastosowaniem tego modelu mają znaczną wartość poznawczą i mogą być wykorzystywane praktycznie w leczeniu ran w przebiegu stopy cukrzycowej. Jest to więc ważna, wartościowa praca. Stwierdzam również, że oceniana przeze mnie rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz 1668) i z pełnym przekonaniem wnioskuję o dopuszczenie lekarza Mateusza Mieczkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.