

Rzeszów 6 grudnia 2024 r.

**Ocena dorobku naukowego lek. Alberta Stachury
w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych**

Wstęp

Lek. Albert Stachura ukończył w 2020 roku studia na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (WUM) uzyskując tytuł lekarza. Od początku swojej pracy wykazywał się dużą aktywnością naukową. Bezpośrednio po zakończeniu studiów rozpoczął studia doktoranckie na WUM. Staż podyplomowy odbył w Szpitalu Czerniakowskim w Warszawie. Jest autorem i współautorem licznych publikacji w recenzowanych czasopismach naukowych, których łączny IF wynosi 73,831, a punktacja MNiSW 1950. Cykl dwóch prac poświęconych zastosowaniu N-acetylocysteiny stał się podstawą postępowania o nadanie tytułu doktora nauk medycznych.

I. Ocena merytoryczna pracy

Cykl prac „Wpływ N-acetylocysteiny na gojenie ran w zwierzęcym modelu cukrzycy”, będący podstawą postępowania o nadanie tytułu doktora nauk medycznych, których lek. Albert Stachura był pierwszym autorem, stanowi spójną całość tematyczną. Wiodącym tematem tych prac jest gojenie ran w zwierzęcym modelu cukrzycy typu 2 (T2DM – type 2 diabetes mellitus) u myszy szczepów db/db oraz ob/ob. Pierwsza z tych prac jest przeglądem systematycznym 105 publikacji z badań modelowych i 361 prac z badań interwencyjnych.

W pierwszej z przedstawionych prac – przeglądzie systematycznym obejmującym łącznie 466 publikacji, kandydat do stopnia doktora nauk medycznych wraz ze współautorami podsumowali dane dotyczące gojenia ran w modelach myszy db/db oraz ob/ob, omawiając liczne aspekty wchodzące w zakres tej tematyki, takie jak fenotyp oraz dynamikę gojenia ran, rolę czynników wzrostu, procesów angiogenezy, cytokin i mechanizmów immunologicznych, funkcję makrofagów, fibroblastów i macierzy pozakomórkowej, skutki dysfunkcji szlaku leptynowego, efekty działania insuliny, rolę końcowych produktów zaawansowanej glikacji (AGEs – Advanced Glycation End-Products), niekodujących fragmentów RNA (ang. non-coding RNA), mechanizmy działania komórek macierzystych pochodzenia szpikowego, apoptozę i autofagię, czy wreszcie funkcję bakterii i biofilmu.

Głównym celem tego przeglądu było przedstawienie mechanizmów, które biorą udział w procesie gojenia ran w mysim modelu T2DM, w którym upośledzony jest szlak leptynowy. Przegląd ten stanowił też wstęp do zaprojektowania badania oryginalnego, które jest drugą częścią przedstawionego cyklu.

W drugiej z przedstawionych prac kandydat do stopnia doktora nauk medycznych przedstawił wyniki badania wpływu N-acetylocysteiny (NAC) stosowanej w formie hydrożelu o różnych stężeniach substancji czynnej na proces gojenia ran w mysim modelu T2DM. Inspiracją do tego były opublikowane dane wskazujące na potencjał terapeutyczny NAC w tym zakresie, jednakże wcześniejsze prace były poświęcone badaniu ran u zwierząt zdrowych lub też ran tworzonych u zwierząt z cukrzycą wyindukowaną substancjami chemicznymi (alloksan, streptozotocyna), będącą zwierzęcym modelem cukrzycy typu 1. Celem tej pracy było zbadanie wpływu miejscowo stosowanych hydrożeli wzbogaconych NAC na gojenie się ran u 20 myszy db/db, które są zwierzęcym modelem T2DM. Na plecach tych myszy wycięto po 4 rany, które następnie poddano działaniu hydrożeli zawierających NAC w stężeniach 5%, 10% i 20% lub placebo (grupa kontrolna). Gojenie ran monitorowano przez 28 dni, a co 3 dni wykonywano zdjęcia ran. Tkanki do badań histologicznych pobierano z ran w dniach 3, 7, 14 i 28. Rany leczone 5% NAC wykazały szybsze tempo gojenia się, czemu towarzyszył zwiększony obszar proliferacji skóry właściwej w ocenie mikroskopowej w porównaniu z innymi grupami. Wyższe stężenia NAC nie wykazały korzystnego wpływu na gojenie się ran. W konkluzji autorzy stwierdzili, że 5% NAC poprawiło wczesne etapy gojenia się ran w mysim modelu cukrzycy typu 2 poprzez przyspieszenie zamykania się ran, co było prawdopodobnie efektem poprawy proliferacji skóry właściwej.

W oparciu o te prace kandydat do stopnia doktora nauk medycznych, lek. Albert Stachura sformułował wnioski, że w mysim modelu T2DM miejscowo stosowany hydrożel uwalniający 5% NAC przyspiesza zamykanie się rany cukrzycowej na wczesnych etapach gojenia, czemu towarzyszy zwiększona proliferacja skóry przylegającej do rany w porównaniu z hydrożelem kontrolnym. Wyższe stężenia NAC nie wykazały korzystnego wpływu na proces gojenia się ran w mysim modelu T2DM. Przyszłe badania powinny koncentrować się na optymalizacji stężenia NAC i drogi podawania w procesie gojenia ran cukrzycowych, jak też na badaniu mechanizmu działania NAC, zwłaszcza jej potencjału do poprawy proliferacji komórek. Eksperymenty powinny ściśle odzwierciedlać warunki gojenia się ran u ludzi, stąd – jeśli są przeprowadzane na modelach mysich – należy zastosować szynowanie (splinting), aby przeciwdziałać obecnemu u gryzoni silnemu mechanizmowi skurczu skóry. Z uwagi na

korzystne wyniki wspomagania gojenia oraz braku ewidentnych działań niepożądanych przy zastosowaniu NAC potencjalnie możliwa jest translacja badań na organizm ludzki..

Trafność problematyki badawczej i jej oryginalność

Zespół stopy cukrzycowej jest jednym z najbardziej kosztochłonnych powikłań w obu typach cukrzycy. Przyspieszenie procesu gojenia ran w zespole stopy cukrzycowej jest jednym z najważniejszych celów terapii, który umożliwia pacjentom szybszy powrót do normalnego funkcjonowania i zdecydowanie obniża koszty leczenia. Stąd poszukiwanie metod leczenia, które powodują szybsze wygojenie ran jest ważkim celem badawczym. W tym kontekście idea stosowania w tym celu hydrożeli o różnych stężeniach NAC jest interesującym projektem badawczym, zwłaszcza że takich badań w zwierzęcym modelu T2DM jeszcze nie prowadzono.

Uzyskane rezultaty i ich znaczenie dla nauki i praktyki

Przegląd systematyczny będący pierwszą z przedstawionych przez kandydata do tytułu doktora nauk medycznych prac jest podsumowaniem danych z ponad stu prac opisujących mechanizmy zaburzonego gojenia ran w mysim modelu cukrzycy typu 2 (myszy ob/ob i db/db). Autorzy w tej pracy omówili dynamikę gojenia się ran i przyczyny utrudniające ten proces: dysregulację funkcji czynników wzrostu, angiogenezę, dysregulację komórek macierzystych, stan zapalny, funkcję leptyny i insuliny, rolę końcowych produktów zaawansowanej glikacji, nieprawidłowości macierzy zewnątrzkomórkowej i rolę niekodujących RNA. Omówili również interwencje badane in vivo, które przeszły do badań klinicznych na ludziach. Przegląd ten stanowił preludium do przygotowania i przeprowadzenia własnej pracy badawczej, której wyniki zostały opublikowane w drugiej z przedstawionych prac.

W drugiej z przedstawionych prac kandydat do tytułu doktora nauk medycznych wraz ze współautorami wykazali korzystny wpływ N-acetylocysteiny stosowanej w formie 5% hydrożelu na gojenie ran wytworzonych u myszy db/db, które są zwierzęcym modelem T2DM. Jest to cenna obserwacja, gdyż NAC jest substancją tanią i możliwość jej zastosowania w celu przyspieszenia gojenia ran w zespole stopy cukrzycowej wydaje się być atrakcyjna. Oczywiście wymaga to przeprowadzenia badań porównawczych ze standardowymi metodami leczenia ran w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej u ludzi.

Podsumowując, mechanizmy opisane w przeglądzie systematycznym, jak też wyniki przedstawione w pracy oryginalnej będących podstawą postępowania o nadanie tytułu doktora

nauk medycznych, powinny być punktem wyjścia dla dalszych badań przeprowadzonych w populacji docelowej, czyli u pacjentów z cukrzycą i obecnością ran w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej.

Uwagi do treści merytorycznej

1. Moją najważniejszą uwagą merytoryczną jest dobór literatury, gdyż wiele z cytowanych pozycji straciło na aktualności, np.:

- Harris, M. I. Impaired glucose tolerance in the U.S. population. *Diabetes Care* 12, 464-474 (1989). <https://doi.org/10.2337/diacare.12.7.464> (*Centers for Disease Control and Prevention (CDC) w USA systematycznie aktualizują dane dotyczące chorobowości w Stanach Zjednoczonych*)
- Saeedi, P. et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9(th) edition. *Diabetes Res Clin Pract* 157, 107843 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843> (*dostępna jest 10 Edycja z 2022 r.*)
- Engelgau, M. M. et al. The evolving diabetes burden in the United States. *Ann Intern Med* 140, 945-950 (2004). <https://doi.org/10.7326/0003-4819-140-11-200406010-00035> (*CDC systematycznie aktualizuje dane dotyczące chorobowości w USA*)
- Sullivan, P. W., Morrato, E. H., Ghushchyan, V., Wyatt, H. R. & Hill, J. O. Obesity, inactivity, and the prevalence of diabetes and diabetes-related cardiovascular comorbidities in the U.S., 2000-2002. *Diabetes Care* 28, 1599-1603 (2005).
- Greenhalgh, D. G. Wound healing and diabetes mellitus. *Clin Plast Surg* 30, 37-45 (2003).
- Tsourdi, E., Barthel, A., Rietzsch, H., Reichel, A. & Bornstein, S. R. Current aspects in the pathophysiology and treatment of chronic wounds in diabetes mellitus. *Biomed Res Int* 2013, 385641 (2013).
- Hennessey, P. J., Ford, E. G., Black, C. T. & Andrassy, R. J. Wound collagenase activity correlates directly with collagen glycosylation in diabetic rats. *J Pediatr Surg* 25, 75-78 (1990).
- Spravchikov, N. et al. Glucose effects on skin keratinocytes: implications for diabetes skin complications. *Diabetes* 50, 1627-1635 (2001).
- Marhoffer, W., Stein, M., Maeser, E. & Federlin, K. Impairment of polymorphonuclear leukocyte function and metabolic control of diabetes. *Diabetes care* 15, 256-260 (1992).
- Fahey III, T. J. et al. Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing. *Journal of Surgical Research* 50, 308-313 (1991).

W zasobach PubMed istnieje wiele nowszych i bardziej aktualnych pozycji dotyczących epidemiologii zaburzeń gospodarki węglowodanowej, czy częstości występowania zespołu stopy cukrzycowej, patomechanizmów powstawania i gojenia ran w przebiegu tego zespołu, czy potencjalnych metod leczniczych ukierunkowanych na te mechanizmy.

2. Nomenklatura

- **Cukrzyca typu 2**, nie II (od 1999 r. stosowane są w nazewnictwie cyfry arabskie)
 - **AGE** (advanced glycation end-products) – w Rozprawie jest „zaawansowane produkty glikacji”, ale tłumaczenie powinno brzmieć: **końcowe produkty zaawansowanej glikacji**
 - „Wpływ N-acetylocysteiny na gojenie ran chirurgicznych w modelu szczurów z cukrzycą streptozocynową”. – powinno być **streptozotocynową**
3. Tytuł grantu jest zbliżony, ale nie jest tożsamy z dysertacją doktorską (dotyczy cukrzycy streptozotocynowej u szczurów, która jest zwierzęcym modelem cukrzycy typu 1, a publikacje odnoszą się do zwierzęcego, mysiego modelu cukrzycy typu 2)

Rozprawa doktorska jest napisana poprawnym językiem, bez błędów stylistycznych, czy interpunkcyjnych, obecne są jedynie drobne, nieistotne błędy literowe, ale pod wszystkimi innymi względami formalnymi napisana jest bardzo dobrze, w związku z tym nie mam żadnych istotnych zastrzeżeń do strony formalno-lingwistycznej pracy.

II. Ocena metodologiczna pracy

Jak napisałem we wstępie, dwie prace będące podstawą postępowania o nadanie tytułu doktora nauk medycznych tworzą spójną tematycznie całość. Pierwsza z nich omawia wyniki badań na zwierzęcych modelach cukrzycy typu 2, a druga jest pracą oryginalną przedstawiającą wyniki badań własnych nad zastosowaniem NAC stosowanej w formie hydrożelu o różnych stężeniach substancji czynnej (5,10 i 20%). Wykaz tych publikacji jest umieszczony na drugiej stronie rozprawy. Łączny impact factor (IF) wymienionych prac wynosi 10,5, a ilość punktów MNiSW 280.

Pierwszy rozdział stanowi wykaz skrótów stosowanych w pracy. Drugi i trzeci są streszczeniami odpowiednio w języku polskim i angielskim

Rozdział 4. stanowi wstęp omawiający w skrócie patofizjologię, obraz kliniczny oraz globalną epidemiologię cukrzycy typu 2, a także jej ważnego powikłania jakim jest zespół stopy cukrzycowej i utrudnione gojenie ran. W dalszej części kandydat do stopnia doktora nauk medycznych przedstawia mechanizmy patogenetyczne prowadzące do upośledzonego gojenia ran podkreślając negatywną rolę hiperglikemii prowadzącej do nadmiernego tworzenia AGEs, zapalenia i zaburzonego funkcjonowania mechanizmów immunologicznych i naprawczych.

W dalszej części kandydat przedstawia dwie prace wchodzące w skład cyklu publikacji uzasadniając dobór prac wykorzystanych do przeglądu systematycznego, jak również wybór tematu i dobór metodologii (w tym wybór modelu zwierzęcego) pracy oryginalnej.

W kolejnej części autor bardziej szczegółowo omawia mechanizmy wpływające na utrudnione gojenie ran w cukrzycy, które zostały opisane w przeglądzie systematycznym oraz prezentuje sposób postępowania w leczeniu ran w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej i uzasadnia wybór N-acetylocysteiny jako substancji użytej w pracy badawczej.

Rozdział 5 przedstawia założenia i hipotezę badawczą oraz cele pracy. Założeniem był korzystny wpływ N-acetylocysteiny na tempo gojenia się ran wycięciowych u myszy db/db będących zwierzęcym modelem cukrzycy typu 2. Natomiast celem pracy było określenie szybkości gojenia ran opatrzonych hydrożelami o różnym stężeniu NAC (5,10 i 20%), co było mierzone szacowaniem obszaru rany w czasie kolejnych 4 tygodni.

W rozdziale 6. przedstawione są kopie obu prac będących podstawą postępowania o nadanie tytułu doktora nauk medycznych.

W Rozdziale 7. Autor dysertacji przedstawia podsumowanie obu prac ze szczególnym uwzględnieniem pracy oryginalnej oraz prezentuje wnioski z nich płynące z uwzględnieniem kierunków dalszych badań w tym temacie.

Rozdział 8. zawiera kopię pozytywnej opinii Komisji Bioetycznej przy Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, a Rozdział 9. oświadczenia współautorów publikacji dotyczące ich procentowego wkładu w ich przygotowanie.

W Rozdziale 10. przedstawiony jest wykaz cytowanej literatury

Podsumowując, układ pracy i struktura podziału treści są prawidłowe, sformułowane hipotezy badawcze, cel badań, dobór metod i narzędzi badawczych, jak też ich zastosowanie nie budzi zastrzeżeń, wyniki są przedstawione w sposób logiczny i spójny, a Rozdział 7 zawiera ich podsumowanie i przedstawia wnioski wyciągnięte przez kandydata do stopnia doktora nauk medycznych.

III. Ocena dorobku

Lek. Albert Stachura od początku studiów doktoranckich oraz swojej pracy zawodowej wykazuje się dużą aktywnością naukową. Problem gojenia ran w zwierzęcym modelu cukrzycy

był głównym kierunkiem badawczym w czasie studiów w Szkole Doktoranckiej WUM (Kandydat do tytułu doktora nauk medycznych był kierownikiem grantu Młodego Badacza poświęconego zbliżonej tematyce oraz dwóch mini-grantów studenckich poświęconych problematyce choroby Parkinsona). Obecnie głównym polem zainteresowań badawczych jest tematyka psychiatryczna (zgodna z aktualnie realizowaną specjalizacją w tej dziedzinie i studiami w Uniwersytecie oksfordzkim).

Lek. Albert Stachura oprócz 2 prac będących podstawą Rozprawy doktorskiej, jest również współautorem 15 innych artykułów (w czterech przypadkach jest pierwszym autorem) opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych. Łączny impact factor IF tych prac wynosi 73,831, punktacja MNiSW 1950, a obecny indeks Hirscha (Web of Science) 6.

IV. Wniosek końcowy

Wartość naukową Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych Alberta Stachury oceniam wysoko, gdyż zarówno praca pogładowa jak też oryginalna, nie budzą wątpliwości co do ich wartości naukowej o czym świadczy czasopismo, w których te prace były opublikowano, jak też ich łączny IF 10,5 i punktacja MNiSW 280 pkt.

Doktorant wykazał się przy tym wysokimi umiejętnościami w prezentacji tematyki Rozprawy. W sposób jasny i precyzyjny w przeglądzie systematycznym nakreślił tło i zakres tematyczny kładąc podwaliny teoretyczne przyszłej pracy badawczej, a w tejże przedstawił w sposób jasny i przejrzysty hipotezy badawcze i cele przeprowadzonych badań. Prawidłowo też przeprowadził omówienie wyników badań w odniesieniu do innych pozycji piśmiennictwa, podsumowując uzyskane wyniki krytyczną ich analizą i wyciągając wnioski zgodne z uzyskanymi wynikami. Jak już wcześniej wspomniałem, moją główną uwagę dotyczącą tej części jest kilka pozycji literatury, które w dobie obecnego szybkiego postępu nauki, utraciły już swoją aktualność.

W podsumowaniu stwierdzam, że Rozprawa doktorska pt. „Wpływ N-acetylocysteiny na gojenie ran w zwierzęcym modelu cukrzycy” spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). Doktorant opanował metody badawcze wykorzystane w przedstawionych pracach i wykazał, że posiada wiedzę teoretyczną i specjalistyczną w wymaganym zakresie, a praca stanowi oryginalne podejście do problemu naukowego.

Doktorant wciąż kontynuuje aktywność naukową, a jego dorobek naukowy już w chwili obecnej jest godzien zauważenia i podkreślenia (łączny IF 73,831, punktacja MNiSW 1950 pkt, indeks Hirscha 6), co rodzi nadzieje na szybki, dalszy awans naukowy, czego z całego serca doktorantowi życzę.

W związku z tym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Alberta Stachury do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Mariusz Dąbrowski, prof. UR