

aliczki
Zwolacz



Katedra Pielęgniarstw Zachowawczych
Zakład Interny i Pielęgniarstwa Internistycznego
Wydziału Nauk o Zdrowiu
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Kierownik: dr hab. n. med. Agnieszka ZWOLAK
ul. Dr W. Chodźki 7, 20-093 Lublin, tel. (81) 448-77-20
e-mail: katedrainterny@umlub.pl



RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. Damiana Sieńko

*„Wpływ wybranych parametrów na metabolizm ludzkich
mezenchymalnych komórek macierzystych oraz ich potencjał
regeneracyjny w terapii leczenia ran.”*

wykonanej

pod kierunkiem naukowym

Promotora: dr hab. n. med. Beaty Mrozikiewicz-Rakowskiej, prof. CMKP

Klinika Diabetologii i Chorób Wewnętrznych

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Podstawę formalną recenzji stanowi pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 24.06.2025r.

Jednym z najcięższych powikłań wieloletniej cukrzycy jest wystąpienie owrzodzenia definiowanego jako stopa cukrzycowa, co niejednokrotnie prowadzi do istotnych powikłań, w tym amputacji kończyny, pogarsza istotnie jakość życia pacjentów i zwiększa ryzyko śmiertelności w tej grupie. W związku z tym od lat poszukuje się nowych metod



**Katedra Pielęgniarstw Zachowawczych
Zakład Interny i Pielęgniarstwa Internistycznego**

Wydziału Nauk o Zdrowiu

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Kierownik: dr hab. n. med. Agnieszka ZWOLAK

ul. Dr W. Chodźki 7, 20-093 Lublin, tel. (81) 448-77-20

e-mail: katedrainterny@umlub.pl



terapeutycznych umożliwiających poprawę ukrwienia i przyspieszenie procesów regeneracyjnych. Dotychczasowe wyniki badań wskazują na korzystne zastosowanie mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC), które charakteryzuje wysoki potencjał samoodnowy, wielokierunkowego różnicowania, działania parakrynnego, modulacji odpowiedzi zapalnej oraz pobudzania angiogenezy. Dane literaturowe wskazują na potencjalne zastosowanie statyn oraz różnych stężeń tlenu w środowisku hodowli. Wszystko to zmierza w kierunku poznania mechanizmów prowadzących do poprawy gojenia ran w warunkach zwiększonych wymagań metabolicznych oraz środowisku zaburzonej perfuzji i jest nieodzowne do wdrożenia innowacyjnych terapii w praktyce klinicznej.

W świetle tych wstępnych rozważań, należy podkreślić celowość wyboru tematyki i wysoki aspekt nowatorski przeprowadzonych doświadczeń przedstawionej do oceny pracy na stopień doktora nauk medycznych przez lek. Damiana Sieńko prowadzonej pod kierunkiem dr hab. n. med. Beaty Mrozikiewicz-Rakowskiej, prof. CMKP.

Celem głównym pracy była kompleksowa analiza wpływu wybranych warunków hodowli *in vitro* na metabolizm ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) oraz ocena ich skuteczności terapeutycznej w klinicznym modelu trudno gojących się ran na przykładzie zespołu stopy cukrzycowej (ZSC).

Należy podkreślić, iż Doktorant zmierzył się z bardzo trudnym i ważnym tematem, szeroko dyskutowanym i omawianym w dostępnej literaturze, zwłaszcza w aspekcie diabetologii i medycyny regeneracyjnej, przyczyniając się do poszerzenia wiedzy o działaniu statyn oraz hipoksji na MSC, a także projektując protokoły kliniczne stosowania MSC w trudno gojących się ranach.

Na podkreślenie ważności tego tematu stanowi fakt, iż dotychczas żadna praca naukowa nie oceniała łącznego wpływu statyn oraz ograniczenia stężenia tlenu w ramach hodowli MSC. Dysertacja wykonywana była w ramach projektu badawczego: praca nr 1 pt. „Ocena wpływu atorwastatyny i rosuwastatyny na wybrane parametry ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych sfinansowanego z mini-grantu studenckiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o numerze 1W21/NM1/17. Praca nr 2 i 3 w ramach grantu o numerze:



**Katedra Pielęgniarstw Zachowawczych
Zakład Interny i Pielęgniarstwa Internistycznego**

Wydziału Nauk o Zdrowiu

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Kierownik: dr hab. n. med. Agnieszka ZWOLAK

ul. Dr W. Chodźki 7, 20-093 Lublin, tel. (81) 448-77-20

e-mail: katedrainterny@umlub.pl



STRATEGMED2/267976/13/NCBR/2015 sfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi cykl trzech artykułów naukowych, dwóch oryginalnych i jednego pogładowego, spójnych tematycznie, opublikowanych w prestiżowych czasopismach (*Tissue and Cell* i *International Journal of Molecular Sciences*), o imponującej wartości IF wynoszącej 12,266, 320 MEiN, których celem było lepsze poznanie i zrozumienie procesów naprawy komórkowej w ZSC. Doktorant jest pierwszym autorem w dwóch z trzech prac w cyklu. Należy również mocno podkreślić, wielodyscyplinarność i wielośrodkowość wykonanych badań, bardzo wysoki potencjał naukowy oraz wysoce praktyczne zastosowanie.

Cykl ten został opatrzony wstępem uzasadniającym połączenie wskazanych publikacji w jeden cykl oraz komentującym osiągnięcia naukowe na tle dotychczasowego stanu wiedzy, założeniem i celem pracy, przedstawieniem wydanych publikacji, podsumowaniem oraz wnioskami. Dodatkowo cykl zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz skrótów, bibliografię i oświadczenia autorów.

W pierwszej pracy zatytułowanej „*The influence of oxygen deprivation and donor age on the effect of statins on human mesenchymal stromal cells.*” Doktorant badał wpływ atorwastatyny oraz rosuwastatyny na MSC w zróżnicowanych warunkach tlenowych, również z uwzględnieniem wieku dawców.

W drugiej pracy „*Allogenic Adipose-Derived Stem Cells in Diabetic Foot Ulcer Treatment: Clinical Effectiveness, Safety, Survival in the Wound Site, and Proteomic Impact*” Autor przeprowadził badania *in vivo*: mezenchymalne komórki macierzyste, izolowane z tkanki tłuszczowej (ADSC), aplikowano do ran w obrębie stopy cukrzycowej, w celu weryfikacji skuteczności terapii komórkowej w leczeniu trudno gojących się ran.

W trzeciej pracy „*The Potential of Mesenchymal Stem/Stromal Cells in Diabetic Wounds and Future Directions for Research and Therapy-Is It Time for Use in Everyday Practice?*” Doktorant dokonał przeglądu literatury i wyników dotychczasowych badań z zakresu terapii komórkowych przy leczeniu ran w stanach takich jak zespół stopy cukrzycowej czy inne przewlekłe owrzodzenia. Praca ta stanowi przegląd literatury naukowej i jej podsumowanie i



**Katedra Pielęgniarstw Zachowawczych
Zakład Interny i Pielęgniarstwa Internistycznego**

Wydziału Nauk o Zdrowiu

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Kierownik: dr hab. n. med. Agnieszka ZWOLAK

ul. Dr W. Chodźki 7, 20-093 Lublin, tel. (81) 448-77-20

e-mail: katedrainterny@umlub.pl



mogłaby stanowić rodzaj rekomendacji i wytycznych w przypadku stosowania terapii komórkowych w ZSC.

Charakterystyka grupy badawczej oraz metodyka badań zawarta w tych pracach jest drobiazgową, wysoce zaawansowaną technologicznie, a wykorzystane metody i narzędzia badawcze nowoczesne, różnorodne i odpowiednie do postawionych celów, co wzbogaca i czyni pracę bardziej wszechstronną i interesującą.

Do badań wykorzystano ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste pozyskane ze szpiku kostnego (BM-MSC) od 12 pacjentów, przeprowadzając standardową charakterystykę fenotypową komórek (ekspresja antygenów CD73, CD90, CD105 oraz brak ekspresji m.in. CD45, CD34) oraz poddano je testom różnicowania do linii osteogenicznej, chondrogenicznej i adipogennej. Kolejne doświadczenia przeprowadzono w środowisku hodowli komórkowych o różnych warunkach tlenowych, inkubując następnie z atorwastatyną oraz z rosuwastatyną, oceniając proliferację metodą BrdU oraz cytotoksyczność za pomocą aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w podłożu.

Na kolejnych etapach doświadczeń będących badaniem klinicznym z udziałem pacjentów z trudno gojącymi się ranami zespołu stopy cukrzycowej- 47 pacjentów podzielonych na dwie podgrupy: pacjentów otrzymujących ADSC w fibrynowym nośniku lub otrzymujących sam fibrynowy klej tkankowy (grupa kontrolna). ADSC izolowane z tkanki tłuszczowej zdrowych dawców aplikowano na powierzchnię ran, monitorując następnie przebieg gojenia oraz czas potrzebny do uzyskania 50-procentowej redukcji powierzchni owrzodzenia. Ponadto w materiale pobieranym z rany przeprowadzono analizy proteomiczne, a także ocenę obecności DNA pochodzącego od dawców komórek, w celu zweryfikowania ich czasu przeżycia w miejscu podania.

O oryginalności pracy własnej świadczy nowatorskie podejście do tematu od doświadczeń *in vitro* do *in vivo*, co pozwoliło na bardziej precyzyjne i dogłębne zbadanie problemu. Należy również podkreślić liczebność grupy badanej, trafność doboru pacjentów do terapii jak również bardzo skomplikowaną metodykę pracy, udział różnych narzędzi badawczych oraz wielokierunkowy aspekt naukowo-praktyczny.



**Katedra Pielęgniarstw Zachowawczych
Zakład Interny i Pielęgniarstwa Internistycznego**

Wydziału Nauk o Zdrowiu

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Kierownik: dr hab. n. med. Agnieszka ZWOLAK

ul. Dr W. Chodźki 7, 20-093 Lublin, tel. (81) 448-77-20

e-mail: katedrainrerny@umlub.pl



Na podkreślenie zasługuje również doniosłość uzyskanych wyników oraz przejrzystość a także syntetyczne ich przedstawienie w poszczególnych pracach (1-2), co ułatwia czytelnikowi ostateczną merytoryczną ocenę tak licznych dokonań i świadczy o dużym nakładzie pracy opisowej i interpretacyjnej Autora. Omawiając wyniki swoich badań w poszczególnych publikacjach (1-3) Doktorant porównuje je z wynikami i obserwacjami innych autorów zwłaszcza, co pragnę podkreślić, iż publikacji o tej tematyce jest niewiele, zwłaszcza krajowej.

W podsumowaniu cyklu trzech prac, na podstawie poprawnie przygotowanych analiz Autor przedstawił kilka wniosków, które dokładnie konkludują uzyskane wyniki i potwierdzają korzystne działania MSC i terapii komórkowych w leczeniu ran.

Całość kończy spis literatury, który został wybrany przez Doktoranta adekwatnie do omawianej tematyki, obejmującej najnowsze pozycje dotyczące omawianych zagadnień.

Wszystkie części stanowią logicznie powiązaną całość i opisują problematykę stosowania MSC w trudno gojących się ranach.

Podsumowując, przedstawiony cykl publikacji dostarcza spójnego obrazu wielopłaszczyznowych badań, wykazujących korzystne działanie MSC w środowisku hipoksji i pod wpływem statyn oraz potwierdzających skuteczność i bezpieczeństwo zastosowania terapii komórkowej w leczeniu przewlekłych ran u pacjentów z cukrzycą. Wyniki te mogą stać się podstawą dalszego rozwoju medycyny regeneracyjnej i wdrażania innowacyjnych rozwiązań w codziennej praktyce klinicznej

W mojej opinii najważniejszy wniosek tej pracy to stwierdzenie iż w warunkach klinicznych terapia komórkowa z użyciem allogenicznych ADSC w stopie cukrzycowej prowadziła do przyspieszenia procesu gojenia ran i wyższej częstości całkowitego wygojenia, bez istotnych zdarzeń niepożądanych. Analizy proteomiczne oraz obserwacje żywotności komórek w ranie potwierdzają, że MSC nie tylko przetrwały w trudnym środowisku miejscowym, ale też aktywnie modulowały lokalną odpowiedź zapalną i stymulowały procesy naprawcze poprzez zwiększoną ekspresję białek proangiogennych oraz immunomodulujących. To bardzo ważne spostrzeżenie naukowe ma ogromne znaczenie nie tylko w aspekcie naukowym, ale przede wszystkim w aspekcie praktycznym. .



Katedra Pielęgniarstw Zachowawczych
Zakład Interny i Pielęgniarstwa Internistycznego
Wydziału Nauk o Zdrowiu
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Kierownik: dr hab. n. med. Agnieszka ZWOLAK
ul. Dr W. Chodźki 7, 20-093 Lublin, tel. (81) 448-77-20
e-mail: katedrainterny@umlub.pl



Pragnę podkreślić, iż takie rekomendacje i tego rodzaju protokoły doświadczalno-eksperymentalne idealnie wpisują się w praktykę kliniczną.

Podsumowując, Doktorant w swoich pracach w sposób niezwykle precyzyjny prezentuje nam zarówno podstawy teoretyczne dotyczące mechanizmów molekularno-immunologiczno-regeneracyjnych biorących udział w procesach leczenia ran, zwraca uwagę na potencjalną rolę statyn, stężeń tlenu w procesie prekondycjonowania, jak również możliwości wykorzystania tej wiedzy w praktyce klinicznej.

Cykl przedstawionych do recenzji publikacji jest twórczo nakreślony, spójny, wielopłaszczyznowy, a umiejętność poruszanych zagadnień i swoboda w operowaniu tematem świadczy o bardzo dobrej znajomości przedstawianych problemów z pogranicza diabetologii, immunologii, biologii molekularnej i medycyny regeneracyjnej oraz prawidłowym wykorzystaniu źródeł literaturowych.

Wartym podkreślenia jest niewątpliwie aspekt praktyczny potencjału MSC w regeneracji tkanek przy różnego rodzaju owrzodzeniach, a z drugiej wyzwania związane z przejściem od badań laboratoryjnych do rutynowych zastosowań klinicznych.

Podkreślam dojrzałość opinii Doktoranta, który szczegółowo wskazał istotne obszary rozwoju: precyzyjne określenie optymalnych dawek i częstotliwości podań, wdrożenie spersonalizowanych protokołów, a także dalsze doskonalenie metod modyfikacji MSC w celu zwiększenia ich przeżywalności w tkankach.

Z obowiązku recenzenta zastanawiam się tylko nad możliwością poszerzenia grupy badanej do pacjentów z owrzodzeniami o innym podłożu etiologicznym, nie związanym z cukrzycą. Recenzent nie znalazł powodu do uwag krytycznych, a przedstawione powyżej zapytanie ma jedynie charakter dyskusyjny i nie wpływa w żaden sposób na bardzo wysoką ocenę pracy.

Reasumując pragnę podkreślić, że lek. Damian Sieńko w swojej pracy doktorskiej podjął się analizy bardzo interesującego oraz ważnego klinicznie, a wręcz społecznie i epidemiologicznie problemu jakim jest próba wykorzystania terapii komórkowych w procesach gojenia ran u pacjentów z cukrzycą. Doktorant w pełni zrealizował postawione wstępnie cele, zastosował odpowiednie metody badawcze, poprawnie przeanalizował uzyskane wyniki i



**Katedra Pielęgniarstw Zachowawczych
Zakład Interny i Pielęgniarstwa Internistycznego**

Wydziału Nauk o Zdrowiu

Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Kierownik: dr hab. n. med. Agnieszka ZWOLAK

ul. Dr W. Chodźki 7, 20-093 Lublin, tel. (81) 448-77-20

e-mail: katedrainterny@umlub.pl



sformułował adekwatne do celów wnioski. Wnioski i obserwacje Doktoranta stanowią użyteczne narzędzie terapeutyczne. Wyniki tych badań mogą stanowić podstawę do stworzenia rekomendacji, zaleceń w kierunku wykorzystania optymalnych metod wczesnej diagnostyki, planowania i terapii w tej grupie pacjentów.

W mojej opinii przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. Damiana Sieńko spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668)". Na tej podstawie mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Damiana Sieńko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie mając na uwadze bardzo wysoki poziom naukowy przedstawionych badań, doniosłość zaprezentowanych wyników, możliwość ich praktycznego wykorzystania oraz ich publikację w prestiżowych czasopismach naukowych, z pełnym przekonaniem i nieukrywaną satysfakcją składam do Wysokiej Rady wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej autorstwa lek. Damiana Sieńko.

Agnieszka Zwolak