

Akceptuję
[Signature]



Łódź 10.09.2023

UNIWERSYTET MEDYCZNY w ŁODZI
Wydział Lekarski

Klinika Ortopedii i Traumatologii

Kierownik: Prof. UM dr hab. n. med. Marcin Domżański

tel. 42 639 35 11, tel./fax. 42 636 83 28

klinika.ortopedii@skwam.lodz.pl

marcin.domzalski@umed.lodz.pl

O c e n a

rozprawy doktorskiej Olgi Adamskiej p.t. „Badania nad wpływem farmakologicznie wywołanej cukrzycy na morfologiczne zmiany oraz wpływem melatoniny na stężenie markerów biochemicznych stresu oksydacyjnego w więzadłach stawu kolanowego.”

W praktyce ortopedycznej często mamy do czynienia z pacjentami z cukrzycą. Występowanie cukrzycy traktujemy zawsze jako czynnik ryzyka w leczeniu ortopedycznym, pamiętając o trudności w gojeniu, zaburzeniach naczyniowych, neuropatiach czy wtórnych zmianach zwyrodnieniowych stawów. Jako ortopedzi nie zastanawiamy się jednak jak jest podłoże patofizjologiczne tych zmian oraz czy w jakiś sposób możemy im zapobiegać. W ramach swojej aktywności naukowej, wiele razy bezskutecznie próbowałem zainteresować badaczy tym problemem i ocenić wpływ cukrzycy na tkanki układu mięśniowo-szkieletowego. Dlatego ze szczególnym zainteresowaniem przyjąłem do recenzji ww. dysertację. W mojej ocenie wybór takiej tematyki jest celowy i cenny, a także (ze swojego doświadczenia wiem) jak trudny i obciążający w realizacji.

Praca napisana w języku angielskim ma typowy układ dla pracy doktorskiej. Wstęp napisany jest bardzo zwięźle i w jasny syntetyczny sposób wyjaśnia badaną problematykę. Widać u Doktorantki dużą znajomość literatury przedmiotu, która pozwala trafnie wypunktować we wstępie najistotniejsze zagadnienia. Przedstawiła również we wstępie przegląd literaturowy dotychczasowych podobnych badań na modelach zwierzęcych. Warto podkreślić, że na osiem przedstawianych badań, aż pięć to publikacje z ostatnich 5 lat. Cele pracy zostały sformułowane jasno i rzeczowo. Autorka przedstawiła następujące cele:

[Signature]

1. Identyfikacja zmian w mikroarchitekturze więzadła, poznanie mechanizmów degeneracyjnych, skutkujących utratą funkcji na podstawie porównania tkanki szczuraz cukrzycą ztkanką zdrowego szczura oraz klasyfikacja zmian z wykorzystaniem histologicznej oceny skali nasilenia włóknienia, utraty włókien elastycznych i zwapnienia w obrębie więzadeł wg Sai-ryo.

2. Analiza różnic w przebudowie i uszkodzeniu więzadeł po interwencjach operacyjnych i procedurach pozorowanych u szczurów z farmakologicznie wywołaną cukrzycą (hiperglikemią) w porównaniu do grupy kontrolnej z normoglikemią.

3. Analiza stężeń inhibitorów aktywności autooksydacyjnej peroksydazy lipidowej, tlenu azotu, S-transferazy glutationu, ceruoplazminy, albuminy, kwasu moczowego w homogenacie tkankowym oraz osoczu krwi zwierząt z grupy z farmakologicznie wywołaną cukrzycą oraz grupy z normoglikemią.

4. Analiza wpływu suplementacji melatoniny na obniżenie stężenia markerów biochemicznych stresu oksydacyjnego w homogenacie tkankowym oraz osoczu krwi pochodzących od zwierząt z farmakologicznie wywołaną cukrzycą oraz normoglikemią.

5. Analiza różnic w stężeniach markerów biochemicznych stresu oksydacyjnego w grupie badanej i kontrolnej oraz pomiędzy grupami z farmakologicznie wywołaną cukrzycą oraz od zwierząt z normoglikemią, poddanych zabiegom operacyjnym w obrębie więzadeł.

Badanie przeprowadzono na modelu zwierzęcym z wykorzystaniem 40 szczurów, u których wykonano przecięcie MCL w lewej kończynie i operację typu „sham” na prawej kończynie. Zwierzęta były podzielone na następujące grupy każda po 10 zwierząt :

1. Grupa z normoglikemią bez melatoniny
2. Grupa z normoglikemią z suplementacją melatoniny
3. Grupa z indukowaną cukrzycą bez melatoniny
4. Grupa z indukowaną cukrzycą z melatoniną

Tak dobrany model badawczy pozwala jednocześnie analizować wpływ melatoniny oraz wpływ cukrzycy na tkanki miękkie.

W metodyce Autorka bardzo szczegółowo opisała wszystkie elementy zastosowanych badań czyli: metody indukcji cukrzycy, postępowanie ze zwierzętami, metodę zabiegu

operacyjnego, sposoby analizy krwi i materiału histopatologicznego. Wnioskowanie statystyczne oparto na powszechnie stosowanych testach do analizy zmiennych nieparametrycznych.

Analizę wyników badań Autorka przeprowadziła starannie.

Wyniki analizy histologicznej zostały zawarte w Tabeli nr 3. Najciekawszym wynikiem tej części jest wykazanie największych zmian zwłóknieniowych, utraty elastyny i zwapnień w Grupie III po stronie operowanej. Zastosowanie melatoniny znacznie zmniejszyło rozległość tych patologii w Grupie IV.

Wyniki analizy ilościowej zostały przedstawione w Tabeli nr 4. Tutaj również wykazano pozytywny wpływ melatoniny w środowisku cukrzycy na jakość i prawidłową strukturę tkanek miękkich, w tym zmniejszenie rozplemu fibroblastów.

Badania biochemiczne krwi wykazały pozytywny wpływ suplementacji melatoniny w cukrzycy na poziomy glukozy, tłuszczu, trójglicerydów oraz cholesterolu we krwi. Analiza wpływu suplementacji melatoniny na wskaźniki steru oksydacyjnego wykazała pozytywny wpływ w warunkach cukrzycy na zmniejszenie poziomu tlenu azotu, zwiększenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, tioli oraz ceruloplazminy oraz LPO. Podobne zależności Autorka wykazała w analizie aktywności w homogenacie z tkanek więzadeł.

Następnie Autorka bardzo szeroko w sposób kompetentny omówiła wyniki przeprowadzonych badań odnosząc je do danych dostępnych w literaturze przedmiotu. Jest to bardzo ważna i mocna część pracy.

Pracę kończy 7 wniosków, w które stanowią podsumowanie najważniejszych wyników badań i w większości są one odpowiedzią na założone cele badawcze. Są przedstawione w jasny, syntetyczny sposób.

1. Tkanki pochodzące od zwierząt z grupy z indukowaną cukrzycą charakteryzowały się włóknieniem strukturalnym, przerostem komórkowym, rozluźnionymi włóknami kolagenowymi z naciekiem limfocytarnym, obecnością komórek tucznych i nadreaktywnością fibroblastów. Cechy te wskazują na intensywnie upośledzone zdolności regeneracyjne, obecność stanu zapalnego i przebudowy.

2. Interwencja chirurgiczna w obrębie więzadła przyczyniła się do nieprawidłowej regeneracji uszkodzenia struktury więzadła u zwierząt z indukowaną cukrzycą. W grupie zwierząt z nor-

moglikemią zaobserwowano niższe nasilenie zmian zapalnych, co sugeruje implikacje choroby metabolicznej na zdolności regeneracyjne tkanki.

3. W homogenacie tkankowym utworzonym z więzadeł zwierząt z grupy z indukowaną cukrzycą wystąpił wzrost aktywności autooksydacyjnej peroksydazy lipidowej spowodowany streptozotocyną, który jest wyznacznikiem zmian zapalnych w obrębie więzadeł. Również stężenie innychmolekuł pośrednio świadczących o obniżonej zdolności regeneracyjnej więzadeł w homogenacie tkankowym pobranym od zwierząt z grupy z indukowaną cukrzycą było podwyższone. Wskazuje to na wysoki poziom stresu oksydacyjnego w tych tkankach. Suplementacja melatoniną w grupie zwierząt z indukowaną cukrzycą przyczyniła się do wzrostu stężenia przeciwutleniaczy, wykazując tym samym ochronny wpływ na tkanki w środowisku hiperglikemii. W grupie zwierząt normoglikemicznych suplementacja melatoniną nie powodowała istotnych zmian.

4. Badanie homogenatu tkankowego pod kątem całkowitego statusu antyoksydacyjnego dało wynik świadczący o cukrzycy jako determinancie zmniejszonej aktywności antyoksydacyjnej więzadeł narażonych na przewlekłą hiperglikemię. Leczenie melatoniną znacząco zwiększyło całkowitą zdolność odpowiedzi na stres oksydacyjny.

5. Badanie dowodzi, że cukrzyca wywiera negatywny wpływ na więzadła, hamując fizjologiczny mechanizm ochronny przed stresem oksydacyjnym. Leczenie melatoniną szczurów z cukrzycą złagodziło zmiany i poprawiło status antyoksydacyjny więzadeł z grupy cukrzyków.

6. Peroksydacja lipidów, która jest jednym z najbardziej szkodliwych skutków produktów wolnorodnikowych, oraz MDA, który jest jednym z jej produktów końcowych, wykazują aktywność do indukcji apoptozy tkanek, co dowodzi, że cukrzyca i towarzyszący jej stres oksydacyjny są głównymi mediatorami zanikania prawidłowej morfologii więzadeł. Obniżone wartości MDA ustalone w grupie z cukrzycą z suplementowaną melatoniną wskazują, że tłumiona negatywny wpływ hiperglikemii na więzadła.

7. Suplementacja melatoniną znacznie zwiększa aktywność przeciwutleniającą u szczurów z indukowaną cukrzycą. Zaobserwowano zahamowanie peroksydacji lipidów, nasilonej w cukrzycy pod wpływem melatoniny.

Uwagi na stronie 34 drugi akapit punktu 7.2 jest napisane :

We wszystkich mierzonych parametrach podawanie melatoniny w grupie II nie wykazało istotnych zmian w porównaniu ze zdrową grupą I. Jednak w tabeli nr 5 widzimy zwiększone

poziomy trójglicerydów i cholesterolu oraz zmniejszony poziom tłuszczu w grupie II oznaczone jako istotne statystycznie. Zupełnie inaczej (poza tłuszczem) zmieniały się te parametry w przypadku cukrzycy.

Również proszę o wyjaśnienie potencjalnego wpływu melatoniny na wskaźniki stresu oksydacyjnego w grupie II w porównaniu z grupą I przedstawione w tabeli nr 6 i 7. Tutaj również niektóre parametry jak aktywność dysmutazy ponadtlenkowej oraz poziom albumin we krwi (tabela nr 6) oraz aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i LPO w homogenacie więzadeł zachowują się inaczej pod wpływem suplementacji melatoniny w środowisku bez cukrzycy.

Te uwagi poczynione są z obowiązku recenzenta, w niczym nie umniejszają wartości pracy, a raczej są spowodowane chęcią wywołania dyskusji. Pracę oceniam bardzo wysoko.

Stwierdzam, że rozprawa doktorskiej Pani Olgi Adamskiej p.t. „Badania nad wpływem farmakologicznie wywołanej cukrzycy na morfologiczne zmiany oraz wpływem melatoniny na stężenie markerów biochemicznych stresu oksydacyjnego w więzadłach stawu kolanowego.” stanowi samodzielny, nowoczesny oraz bardzo wartościowy dorobek naukowy Autorki. Temat rozprawy doktorskiej dobrany jest bardzo dobrze i pokazuje jak ważne w ortopedii są badania podstawowe realizowane w ujęciu interdyscyplinarnym. Poznanie choć części mechanizmów patofizjologicznych wpływu cukrzycy na tkanki układu mięśniowo szkieletowego pozwoli nam praktykom na szersze spojrzenie i odpowiedni dobór terapii u naszych Pacjentów dotkniętych tą chorobą.

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. Z pełnym przekonaniem o wysokich walorach naukowych pracy wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie Pani Olgi Adamskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na wysoki poziom innowacyjności, szerokiej analizy oraz trudności w jej wykonaniu składam wniosek o wyróżnienie pracy.


Prof. dr. hab. n. med. Marcin Domżański

