

Alicehoff  
Hoff

Kraków, 26. 1.1. 2024 r.

## Recenzja

### **rozprawy doktorskiej lek. Alberta Stachury pt. Wpływ N-acetylocysteiny na gojenie ran w zwierzęcym modelu cukrzycy**

Stopa cukrzycowa stanowi jedno z najpoważniejszych przewlekłych powikłań cukrzycy. Wskutek przedwczesnych i pochopnych amputacji z powodu stopy cukrzycowej (ok. 85% amputacji można by uniknąć), powikłanie to prowadzi do poważnego inwalidztwa, a w wyniku jednej już amputacji prowadzi do kolejnych i zwiększonego ryzyka zgonu. Kluczowym momentem w rozwoju tego powikłania jest pojawienie się owrzodzenia, a więc nie gojącej się rany, co powoduje, pochopną często i nie poprzedzoną próbami leczenia bardziej zachowawczego, interwencją chirurgiczną w postaci wysokiej amputacji. Panuje brak orientacji co do oszczędnego postępowania chirurgicznego polegającego jedynie na cierpliwym usuwaniu zmienionych tkanek martwiczych i stosowaniu leczenia farmakologicznego miejscowego i ogólnego. Przez to pozbawia się chorego szansy zachowania kończyny i prowadzi do inwalidztwa. Duży udział w tym mają błędy w finansowaniu leczenia stopy cukrzycowej, preferujące działanie amputacyjne i nie uwzględniające zespołowego postępowania zachowawczego i edukacyjnego zapewniającego cierpliwe stosowanie opracowania rany i używanie preparatów (zależnie od fazy gojenia) przyspieszających oczyszczanie i gojenie rany. Wśród preparatów sprzyjających gojeniu się rany wciąż poszukiwane są optymalne rozwiązania dopasowane do przebiegu i fazy gojenia. Przed zastosowaniem klinicznym niezbędne są oczywiście badania doświadczalne i takie postępowanie jest szeroko rozpowszechnione. Przyczynkiem do takich poszukiwań jest właśnie omawiana praca doktorska lek. Alberta Stachury.

Praca doktorska lek. A. Stachury składa się z dwóch części już opublikowanych w postaci artykułów autorstwa A. Stachury i wsp.: 1) pracy o charakterze systematycznego przeglądu piśmiennictwa pt. Wound healing impairment in type 2 diabetes model of leptin-deficient mice – a mechanistic systematic review (Int. J. Mol. Sci. 2022; 23: 8621) i 2) oryginalnej pracy doświadczalnej pt. The influence of N-acetylcysteine-enriched hydrogels on wound healing in a murine model of type II diabetes mellitus (Int. J. Mol. Sci. 2024; 25: 9986).

W przeglądzie systematycznym z zastosowaniem systemu PRISMA, po starannej selekcji, wyodrębniono 105 artykułów dotyczących wyboru modelu zwierzęcego do badania ran oraz 361 opracowań dotyczących interwencji terapeutycznej. W przeglądzie systematycznym piśmiennictwa, który po pierwsze miał właśnie służyć jako podstawa do wyboru rodzaju modelu zwierzęcego,

najbardziej odpowiedniego, dostępnego i taniego do przeprowadzenia badań nad środkiem wpływającym na gojenie się ran, szczególnie podkreślono zastosowanie myszy db/db i ob/ob z deficytem leptyny. Omówiono i przeanalizowano mechanizmy gojenia się ran u doświadczalnych myszy leptynowych. Przegląd piśmiennictwa posłużył także do wyboru środka poprawiającego gojenie się ran w sytuacji eksperymentalnej. Przeanalizowano różne metody stosowane w eksperymencie, w tym te, które znalazły zastosowanie w próbach klinicznych, jak m.in. betaplerynę, chitosan, insulinę stosowaną miejscowo, a także interwencje oziębiające czy wibracje wysokiej częstotliwości i inne. Po analizie różnych metod wybrano środek do przeprowadzenia własnych badań doświadczalnych. Tym środkiem była N-acetylocysteina (NAC), antyoksydant, środek antyapoptotyczny, wspierający układ odpornościowy, stosowany w szerokiej gamie schorzeń od chorób wątroby, jelit do schorzeń neurodegeneracyjnych, a także jako ochrona przy radio- i chemioterapii, hemodializie i jako ochrona nerek przy metforminie po zastosowaniu kontrastu dożylnego.

W części doświadczalnej celem pracy była ocena gojenia się rany ekscyzyjnej (wycięciowej) przy użyciu hydrożelu (przy dobieranym najskuteczniejszym jego pH) z różnymi stężeniami NAC tj 5, 10 i 20% porównane z placebo. Mierzono powierzchnię rany z użyciem fotografii. Jako dodatkowe cele przedstawiono analizę preparatów histologicznych, zachowanie się włókien kolagenowych oraz dynamikę zmian fenotypów makrofagów.


Z przedstawionych rezultatów badania wynika, że tylko stężenie 5% NAC skutecznie przyspieszało gojenie się ran mierzone ich powierzchnią. Stężenia wyższe nie tylko były mniej skuteczne, ale pogarszały gojenie w porównaniu do placebo. Również w pomiarach histomorfometrycznych (grubość naskórka, stopień rozrostu) stężenie 5% dało najlepsze rezultaty. Nie zaobserwowano znamienych zmian odnośnie zachowania kolagenu i przekształcania makrofagów.

Oceniając pracę, skoncentruję się na wskazaniu pewnego ciągu logicznego poszukiwania rozwiązań doświadczalnych dla znalezienia sposobu poprawy przebiegu gojenia się ran u myszy z deficytem leptyny. Nie będę dyskutował ani podważał metodyki badań zarówno w zakresie przeglądu systematycznego jak i własnych eksperymentów, ponieważ badania opublikowane były w recenzowanym czasopiśmie, chociaż chętnie zapoznałbym się dokładniej z opisem wykonywania rany wycięciowej. Oczywiście bardzo dyskusyjne może być przenoszenie wyników eksperymentu z myszami ob/ob i db/db na patologię ludzką. Jak wiadomo i co Autor podkreśla krytycznie, ten model zwierzęcy bardziej przypomina cukrzycę monogenową, a nie, wynikającą z nakładania się czynników środowiskowych na wielogenowość, cukrzycę typu 2. Drugim aspektem, który należy brać bardzo ostrożnie pod uwagę w porównaniu eksperymentu z kliniką, jest różnica w budowie skóry gryzoni i człowieka. Trzecim wreszcie elementem różnicującym jest charakter i sposób wywoływania

eksperymentalnej rany w porównaniu do długotrwałych, zainfekowanych, powstałych wskutek neuropatii i ucisku mechanicznego owrzodzeń w przypadku stopy cukrzycowej. Jak jednak już wspomniano, Autor krytycznie uwzględnia te różnice. Poza tym leczenie owrzodzenia stopy cukrzycowej jest wieloczynnikowe, zespołowe, ogólne i miejscowe, a w tym eksperymencie mamy jak gdyby interwencję pojedynczą, wybiórczą. Trzeba wreszcie uwzględnić fakt dynamiki gojenia się rany i stosowania, jak wiadomo, różnych rozwiązań w zależności od fazy gojenia. Należałoby odpowiedzieć sobie na pytanie, dla których okresów gojenia, choćby wspomnianego w pracy podziału T.I.M.E.R.S. można by w przyszłości zastosować z korzyścią NAC (dalsze prace?). Wszystkie te pytania, raczej może o charakterze klinicznym, nie umniejszają wartości i prawidłowości pracy, której innowacyjność (pierwsze w świecie zastosowanie NAC do leczenia ran w modelu zwierzęcym cukrzycy typu 2) upoważnia do wysokiego jej oceniania. Oczywiście najwyższą oceniam część oryginalną eksperymentalną. Na koniec tego omówienia drobniutka uwaga językowo-nomenklaturowa – należy się trzymać nazewnictwa WHO, IDF, PTD, ADA, EASD – cukrzyca typu 2, a nie jak Autor naprzemiennie stosuje określenie typu II lub typu 2.

Podsumowując, praca doktorska lek. Alberta Stachury wnosi szereg wartościowych informacji do nauki o trudnym powikłaniu cukrzycy, jakim jest stopa cukrzycowa, uzbraja nas, być może, w nowe narzędzie do gojenia się ran, jakim jest N-acetylocysteina. Praca jest przeprowadzona i przygotowana zgodnie z przyjętymi standardami badań naukowych, tak w zakresie przeglądu piśmiennictwa, jak i prowadzenia badań eksperymentalnych na zwierzętach. Spełnia ona wszystkie warunki wymagane od prac na stopień doktora. W związku z powyższym wnioskuję o przyjęcie pracy jako podstawy do przejścia do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

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)

  
Prof. dr hab. med. Jacek Sieradzki

Em. prof. Uniwersytetu Jagiellońskiego