

Prof.dr hab. Adam Włodarkiewicz

Gdańsk, 18.12.2019

em. Kierownik Katedry i Kliniki Chirurgii

Szczękowo-Twarzowej i Stomatologicznej GUMed

em. Kierownik Oddziału Dermatologii

Kliniki Dermatologii GUMed

Ocena pracy na stopień doktora nauk medycznych lek.med. Pawła Kolano

p.t. "Udział zaburzeń angiogenezy i macierzy zewnątrzkomórkowej w rozwoju owrzodzeń podudzi"

Owrzodzenia podudzi w przebiegu przewlekłej niewydolności żylniej stanowią około 75% ran niegojących się lub trudno poddających się terapii. Są one bardzo poważnym problemem ze względu na nawrotowy i przewlekły charakter oraz konieczność kosztownego i długotrwałego leczenia. Bardzo liczne publikacje wskazują na coraz lepsze poznanie przez nas mechanizmów powstawania i gojenia przewlekłych ran, otwierać też mogą one nowe możliwości skutecznego leczenia. Patogeneza owrzodzeń żylnych wciąż jeszcze nie jest jednak rozwiązana w stopniu dostatecznym. Oprócz czynników cywilizacyjnych, uwzględnia się coraz lepiej poznane komórki, enzymy, czynniki wzrostowe, cytokiny, liczne białka macierzy zewnątrzkomórkowej. Są one zaangażowane zarówno w procesy naprawcze jak i destrukcyjne w ranie. Lepsze poznanie procesów patofizjologicznych ran wiąże się z nadzieją na skuteczniejsze leczenie i prewencję przewlekłych ran. Poznanie mechanizmów powstawania owrzodzeń żylnych i procesów zakłócających gojenie może być także przyczynkiem do nowych, spersonalizowanych terapii. Z tego powodu wynika celowość podjęcia przez Doktoranta własnych badań, u podstaw których leży wpływ białek zawiadujących metabolizmem tkanki łącznej i białek uczestniczących w angiogenezie.

Przedstawiona do recenzji praca ma typowy dla rozpraw doktorskich układ i składa się z następujących rozdziałów: wstęp, założenia i cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja i wnioski. Rozprawa ma 89 stron maszynopisu,, 12 tabel i 12 rycin dokumentujących badania.

We wstępie Autor przedstawia syntetycznie główne rodzaje owrzodzeń podudzi, a następnie bardziej szczegółowo klinikę, aktualne klasyfikacje, fizykalne i dopplerowskie metody oceny przewlekłej niewydolności żylniej. W końcu tej części wstępu prezentowane są dostępne metody zachowawczego i operacyjnego leczenia owrzodzeń żylnych.

W drugiej części wstępu Doktorant prezentuje rolę wybranych białek w rozwoju owrzodzeń. Autor wybrał, zarówno badane już w owrzodzeniach podudzi metaloproteinazy 1 i 9, inhibitor

metaloproteinazy 9 / TIMP-1/, czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego, angiogennę, jak i mało poznana katepsynę K.

MMP-1, MMP-9 TIMP-1, VEGF i angiogennę oceniano w surowicy chorych. Katepsynę K i VEGF w immunohistochemicznej ocenie ekspresji w bioptatach.

Po zapoznaniu się z tą częścią pracy stwierdzam, że jest ona napisana niezwykle syntetycznie, w skondensowany sposób ujmuje najistotniejsze problemy, z dużą wprawą i eleganckim językiem. Zaprezentowanie patofizjologii niewydolności żylniej jest więcej niż poprawne. Świadczy to o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym dr Pawła Kolano do prowadzenia badań.

Dostrzegłem dwa drobne niedociągnięcia:

W przeglądzie metod leczenia owrzodzeń brak jest leczenia podciśnieniowego, ale w dyskusji jest wzmianka o tym nowoczesnym postępowaniu. Sądzę, że jest to przypadkowe pominięcie problemu. Dobrze byłoby wspomnieć o terapii komórkami macierzystymi. Również prawdopodobnie ze znacznej syntetyczności wstępu, zwartości tekstu, co świadczy o talencie Autora, nie przedstawiono, jakie opatrunki, do jakich ran są wskazane. Warto by o tym wspomnieć, bo z szerokiego wachlarza opatrunków aktywnych musi być wybrany korelujący ze stanem aktualnym rany.

Celami pracy były:

1. Ocena stężenia MMP-1 i MMP-9 w surowicy krwi osób zdrowych i chorujących na owrzodzenie żyłne podudzi. 2. Ocena stężenia TIMP-1 w surowicy krwi pacjentów zdrowych i chorujących na owrzodzenia żyłne podudzi. 3. Ocena stężenia VEGF i angiogeniny w surowicy krwi pacjentów zdrowych i chorujących na owrzodzenia żyłne podudzi. 4. określenie potencjalnej roli katepsyny K i VEGF w rozwoju owrzodzeń podudzi poprzez immunohistochemiczną ocenę ich ekspresji w bioptatach skóry pochodzących z owrzodzeń żylnych podudzi.

W punkcie 4 należałoby dodać ... "i skórze osób zdrowych".

Materiał badawczy stanowiło 39 osób z owrzodzeniami żylnymi podudzi, 32 wolontariuszy stanowiło grupę kontrolną. Łącznie było 71 osób w porównywalnym wieku. Wszystkie zmiany skórne były z aktywnym owrzodzeniem, o znanej etiologii, z zajęciem żył powierzchownych i głębokich, z refluksem. Wykluczono osoby z dodatnim wywiadem w kierunku nowotworów złośliwych, leczonych immunosupresyjnie i chorujących na inne zaburzenia naczyniowe lub układowe.

Od wszystkich uczestników badania uzyskano zgodę na udział w badaniu, jak również zapoznano ich z protokołem i zgodą Komisji Bioetycznej UM w Łodzi.

Metody badań zostały szczegółowo opisane i nie budzą zastrzeżeń. Opracowanie statystyczne wyników jest prawidłowe.

Wyniki

Autor wykazał, że stężenie MMP-1 i MMP-9 było istotnie wyższe w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie wykazano natomiast istotnych statystycznie różnic w stężeniu TIMP-1 między obiema grupami. Wskaźnik MMP-1/TIMP-1 był jednak istotnie wyższy w grupie badanej niż w grupie kontrolnej.

Stężenia VEGF i angiogeniny były istotnie wyższe w grupie badanej w porównaniu do kontroli.

Przechodząc do badań immunohistochemicznych, Autor wykazał ekspresję katepsyny K w fibroblastach i komórkach nacieku zapalnego zarówno w grupie badanej jak i kontrolnej, jednakże w tym drugim przypadku ekspresja była bardzo słaba. W grupie badanej białko VEGF wykryto w komórkach nabłonkowych i śródbłonkowych i komórkach nacieku zapalnego w istotnie wyższej ekspresji w grupie badanej. Ponadto gęstość naczyń w grupie badanej była istotnie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną.

W dyskusji przywołane są najistotniejsze, nowe publikacje dotyczące badanych białek w owrzodzeniach żylnych i innych, co pozwala wysunąć własne hipotezy znaczenia MMP-1 i MMP-9 jako elementów proteolitycznych i braku aktywności hamującej je przez TIMP-1. Ciekawe jest wybranie przez dr. Kolano MMP-9, zamiast badanej już metaloproteiny 8. Jest to istotny nowy wkład do wiedzy.

Angiogeneza jest ważnym zjawiskiem w gojeniu się ran. VEGF i angiogenina mogą być punktem uchwytu dla przyspieszenia gojenia ran. Doktorant wprawnie polemizuje z obserwacjami innych badaczy. Zwłaszcza ciekawe jest, czy VEGF będzie mógł być wykorzystany w praktyce jako czynnik prognostyczny w leczeniu owrzodzeń?

Niezmiernie inspirujący jest fragment dyskusji dotyczący słabo poznanej katepsyny K, Niezwykle ważne jest zwrócenie uwagi na jej wpływ na ECM. Są to nowe dane dotyczące nierównowagi między syntezą i degradacją ECM a białkiem katepsyną K. Zachęcam do kontynuacji badań.

Na podstawie uzyskanych wyników Autor wysunął 4 wnioski:

1. Podwyższone stężenie MMP-1 i MMP-9 w surowicy krwi pacjentów z grupy badanej w porównaniu do grupy kontrolnej świadczy o udziale tych metaloproteinaz w patogenezie owrzodzeń żylnych podudzi.
2. Brak istotnych różnic w stężeniu TIMP-1 między grupą kontrolną a badaną może świadczyć, że w rozwoju owrzodzeń żylnych podudzi przewagę uzyskują procesy proteolityczne.

3. Podwyższone stężenie VEGF i angiogeniny, jak również zwiększona ekspresja immunohistochemiczna VEGF w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej wskazuje, że jednoczesnym zjawiskiem do remodelingu ECM jest proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych.

4. Zwiększona ekspresja katepsyny K w tkankach pochodzących z owrzodzeń żylnych świadczy nie tylko o jej udziale w rozwoju samego owrzodzenia, ale wskazuje też, że może istnieć nowy regulator remodelingu EMC wymagający dalszych badań.

Podsumowując, rozprawę doktorską lekarza Pawła Kolano oceniam bardzo wysoko. Badania zostały przeprowadzone rzetelnie i osiągnięto założone cele.

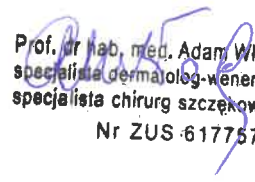
Uwagi moje w recenzji nie umniejszają wysokich walorów rozprawy.

Autor wykazał się umiejętnościami posługiwania się warsztatem badawczym stosownie do założeń pracy. Sposób wykonania badań i opracowania wyników świadczą o umiejętności prawidłowego zaplanowania badań i ich samodzielnego wykonania.

W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o przyjęcie ocenianej pracy jako rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i dopuszczenie lek. Pawła Kolano do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto rozprawa wnosi nowe, oryginalne elementy do wiedzy z zakresu patofizjologii przewlekłych ran i można ją uznać za wyróżniającą, co również pozwalam sobie przedłożyć Wysokiej Radzie.

Prof. zw.dr hab. Adam Włodarkiewicz


Prof. dr hab. med. Adam Włodarkiewicz
specjalista dermatolog-wenerolog, chirurg
specjalista chirurg szczękowo-twarzowy
Nr ZUS -6177576