

recenzja

Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie  
Państwowy Instytut Badawczy  
02-781 Warszawa, ul. Roentgena 5 tel. 22 546-33-86  
**KLINIKA ENDOKRYNOLOGII ONKOLOGICZNEJ  
I MEDYCYNY NUKLEARNEJ**  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Marek Dedecjus

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych**

Lek. Piotr Ławniczak

**p.t. „OCENA PRZYDATNOŚCI DOOTRZEWNOWYCH  
SIATEK POLIPROPYLENOWYCH POKRYTYCH  
RESORBOWALNĄ WARSTWĄ CHITOZANU W PLASTYCE  
POWŁOK JAMY BRZUSZNEJ – BADANIA NA MODELU  
ZWIERZĘCYM“**

Promotor dr hab. n. med. prof. nadzw. Zbigniew Pasieka

Przepukliny brzuszne są schorzeniami typowo chirurgicznymi, których wyleczenie możliwe jest tylko na drodze operacyjnej. Poszukiwania optymalnej metody leczenia przepuklin trwają od początku rozwoju dziedziny medycyny jaką jest chirurgia. Ostatnie dekady to czas dynamicznego rozwoju technik operacyjnych leczenia przepuklin, w tym również technik wideoskopowych.

Wynalezienie i zaadoptowanie do użytku medycznego syntetycznych materiałów polimerowych spowodowało rozwój beznapięciowych operacyjnych technik stosowanych w leczeniu przepuklin. Specjalne siatki polimerowe są wykorzystywane w celu przykrycia ubytku powięzi lub wzmocnienia powięzi, bez zwiększania napięcia tkankowego, do którego dochodziło w klasycznych technikach. Zastosowanie technik beznapięciowych zmniejszyło w sposób istotny ryzyko nawrotu i, co niemniej istotne, przyspieszyło rekonwalescencję

i powrót chorego do normalnej aktywności i pracy. W chirurgii najczęściej wykorzystywana jest siatka polipropylenowa, której zastosowanie stanowi obecnie standard w leczeniu przepuklin. Wszczepiona siatka polipropylenowa powoduje intensywne włóknienie obejmujące zarówno implant, jak i tkanki przyległe. Jest to zaletą przy stosowaniu w miejscu braku kontaktu z narządami wewnętrznymi (kanał pachwinowy, przestrzeń przedotrzewnowa). Z tych samych powodów dyskwalifikuje ją z użycia wewnątrzotrzewnowego, gdyż włóknienie w jamie otrzewnowej może prowadzić do powstania masywnych zrostów implantu z narządami jamy brzusznej, co w konsekwencji może być przyczyną niedrożności przewodu pokarmowego lub przetok jelitowych. Aby umożliwić dootrzewnową implantację siatki istnieje kliniczna potrzeba stworzenia materiału syntetycznego pozbawionego tej cechy. Oczekuje się, że pokrycie implantu dodatkową warstwą materiału antyadhezyjnego od strony jamy otrzewnowej spowoduje zmniejszenie ilości powikłań z jednoczesnym zachowaniem niewielkiej częstości nawrotów. Na rynku obecnych jest wiele siatek kompozytowych, posiadających zarówno warstwę sprzyjającą powstawaniu zrostów jak i warstwę antyadhezyjną i antybakteryjną, którą stanowi materiał wchłaniający lub niewchłaniający. Do materiałów wchłaniających należą m.in. kolagen, glikol polietylenowy, karboksymetyloceluloza, kwas hialuronowy. Natomiast warstwę niewchłaniającą mogą tworzyć m.in.: ekspandowany politetrafluoroetylen, poliuretan czy silikon. Mimo, że są to produkty cieszące się uznaniem na całym świecie, ograniczeniem ich powszechnego zastosowania jest wysoki koszt ich produkcji. Trwają poszukiwania materiału antyadhezyjnego, antybakteryjnego charakteryzującego się korzystnym relacją skuteczności i bezpieczeństwa do jego ceny. Takim materiałem może okazać się pochodna chityny – chitozan. Chityna to liniowy homopolimer zbudowany z N-acetylo-D-glukozaminy. Chityna pozyskiwana jest głównie z egzoszkieletów skorupiaków morskich, owadów, czy nawet grzybów i po celulozie jest najbardziej rozpowszechnionym polimerem w przyrodzie. Pancerze skorupiaków zawierają od 20% do 40% chityny. Występuje ona w trzech odmianach amorficznych  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  różniących się właściwościami fizykochemicznymi. Najbardziej rozpowszechnioną w przyrodzie jest forma  $\alpha$ , natomiast najrzadziej forma  $\gamma$ , będąca pochodną  $\alpha$  chityny. Chityna, niezależnie od odmiany polimorficznej, wykazuje silnie uporządkowaną strukturę krystaliczną, co jest wynikiem silnych oddziaływań międzycząsteczkowych. Chityna jest praktycznie nierozpuszczalna w typowych rozpuszczalnikach organicznych i nieorganicznych, co zmniejsza jej wykorzystanie na skalę przemysłową. Fakt, że chityna

posiada unikalne właściwości fizykochemiczne i biologiczne, a jej baza jako surowca jest praktycznie nieograniczona, sprawia, że obecnie badania skupiają się na wytworzeniu nowych biokompatybilnych pochodnych chityny, charakteryzujących się dogodnymi właściwościami przetwórczymi. Do takich pochodnych należy chitozan. Jest on produktem częściowej deacetylacji chityny i charakteryzuje się dużo lepszą od niej rozpuszczalnością. Z powyższych względów praca Doktoranta polegająca na ocenie wartości siatek polimerowych pokrytych chitozanem jest ze wszech miar uzasadniana a tematyka interesująca i aktualna.

Praca jest złożona z 10 rozdziałów, które liczą łącznie 98 stron. Na końcu pracy znajdują się: streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografia. Opracowanie zawiera 19 czytelnych tabel i 11 rycin. Dodatkowo w części dotyczącej analizy statystycznej jest wiele nienumerowanych tabel dotyczących wykonanych obliczeń. Na bibliografię składa się 171 pozycji piśmiennictwa ułożonych w kolejności cytowania i obejmujących zarówno doniesienia polskie jak i zagraniczne.

Recenzowana praca posiada typowy układ rozprawy doktorskiej. Składa się ze wstępu, w którym doktorant przedstawił epidemiologię, etiopatogenezę oraz zasady leczenia przepuklin brzusznych zarówno te historyczne jak i te współcześnie wykorzystywane. Na początku rozdziału doktorant doprecyzował kwestię definicji przepukliny i omówił podstawowe kwestie anatomiczne tej patologii. W końcowej części tego rozdziału autor wprowadza czytelnika w zagadnienia dotyczące dostępnych biomateriałów oraz zasad ich wykorzystywania we współczesnej chirurgii przepuklin.

W kolejnych rozdziałach doktorant przedstawił cele i założenia pracy, którą można zdefiniować jako prospektywne badanie porównawcze na modelu zwierzęcym. Cel pracy jest jasno sformułowany i dotyczy oceny wpływu pokrycia chitozanem siatki polipropylenowej na odczyn miejscowy wywołany jej dootrzewnowym wszczepieniem szczurom szczepu Wistar. W rozdziale „Materiały i Metody” doktorant przedstawił charakterystykę grup badanych obejmujących 100 samic szczurów szczepu Wistar o masie 250 – 350g w wieku 12 – 14 tyg. Zwierzęta zostały podzielone na cztery grupy:

1. Grupa kontrolna „0” – wykonano zwiadowczą rewizję jamy otrzewnej.
2. Grupa „1” – wykonano dootrzewnową implantację siatki polipropylenowej
3. Grupa „2” – wykonano dootrzewnową implantację siatki z jednostronną powłoką z polifluorowinilidenu

4. Grupa „3” – wykonano dootrzewnową implantację siatki z jednostronną powłoką z chitozanu.

Wszystkie zwierzęta przeszły podobną procedurę jeśli chodzi o znieczulenie a następnie zostały poddane odpowiedniej w zależności od grupy procedurze chirurgicznej polegającej na zwiadowczej rewizji jamy otrzewnowej (grupa kontrolna) lub laparotomii z dootrzewnowym wszczepieniem odpowiedniej siatki grupa 1 – siatki polipropylenowej, grupa 2 siatki z jednostronną powłoką z polifluorowinilidu i grupa 3 - siatki polipropylenowej z jednostronną powłoką z chitozanu (grupy „1”, „2” i „3”). Każdą z grup podzielono dodatkowo na dwie podgrupy (A i B), w których obserwacja trwała odpowiednio 14 i 90 dni. Operacja była prowadzona z zastosowaniem identycznego znieczulenia, chociaż należy wspomnieć, że procedura w grupie „0” trwała istotnie krócej, co raczej nie powinno mieć wpływu na ostateczne wyniki. Po odpowiednio 14 i 90 dniach przeprowadzono ponowną laparotomię z dostępu przyprostego prawego co pozwalało na uwidocznienie okolicy poprzednio operowanej wraz z wszczepionym implantem i pobierano wycinek o wymiarze 4x4 cm. Następnie poddawano wycinek ocenie makroskopowej a po utrwaleniu i dalsze preparatyce ocenie mikroskopowej.

Badanie makroskopowe polegało na ocenie: stopnia i jakości zrostów, stopnia pokrycia wszczepionego implantu siatką naczyń krwionośnych, migracji siatki i zmiany wielkości siatki, oraz obecności stanu zapalnego. Ocenę stopnia zrostów implantu dokonano z użyciem zmodyfikowanego wyniku przyczepności wg. skali Vandendael'a opartej o cztery kryteria: szerokość zrostu (wyrażonego w mm); grubość zrostu (wyrażonego w mm); subiektywna siła zrostu oraz liczba zrostów. Wymienione powyżej cechy przeliczono na liczbę punktów według określonych kryteriów co umożliwiło ocenę ilościową.

Z kolei oceny jakościowej zrostów dokonano za pomocą skali GA (Grading of Adhesions). W ocenie mikroskopowej dokonano ilościowej oceny odczynu zapalnego będącego wynikiem odpowiedzi organizmu na wszczepienie materiału obcego. Ocenie poddano: wielkość powierzchni implantu pokrytego przez tkankę łączną tworzącą zrosty (wyrażoną w procentach), skład tkanki łącznej tworzącej zrost z uwzględnieniem komórek wczesnej reakcji zapalnej (makrofagów, limfocytów, trombocytów) oraz fibroblastów i ich produktów, a także stosunek komórek wczesnej reakcji zapalnej do fibroblastów i ich produktów (wyrażony w procentach).

JK 4

Uzyskane wyniki przedstawiono czytelnie w formie tabel i rycin a następnie poddano rzetelnej ocenie statystycznej z wykorzystaniem testów parametrycznych i nieparametrycznych oraz analizę istotności korelacji. Doktorant wykorzystał prawidłowo dobrane testy statystyczne, aczkolwiek rozdział dotyczący analizy statystycznej jest zdaniem Recenzenta zbyt szczegółowy i można by pominąć wyliczenia pozostawiając tylko kluczowe informacje dotyczące wyników analizy statystycznej.

Dyskusja jest merytoryczna i dobrze napisana. Recenzentowi nieco brakuje w niej polemiki Doktoranta z wynikami innych badaczy, ale należy przyznać, że uzyskane wyniki są poddane rzetelnej analizie i odniesione do wyników innych badaczy.

Na podstawie rzetelnej i wnikliwej analizy wyników statystycznych Doktorant sformułował wnioski. Doktorant zachował ostrożność w formułowaniu wniosków, choć należy nadmienić, że wnioski sformułowane przez Doktoranta nie są odpowiedzią na cel pracy, który zawarty jest w jednym zdaniu: „Celem mojej pracy jest porównanie odczynu miejscowego na wszczepioną dootrzewnowo siatkę pokrytą chitozanem z siatkami rutynowo stosowanymi w plastyce powłok jamy brzusznej.” Nie umniejsza to w żaden sposób wartości pracy, jednakże przed publikacją warto byłoby doprecyzować cele pracy tak, aby uzyskane wnioski były odpowiedzią na zagadnienie poddawane analizie.

Uwagę Recenzenta zwraca duża śmiertelność w okresie okołoperacyjnym (9 zwierząt i 1 w okresie pooperacyjnym) oraz fakt braku stwierdzonych zakażeń w badanych grupach operowanych zwierząt. Czy udało się zidentyfikować przyczynę tak dużej śmiertelności w okresie okołoperacyjnym i jak Doktorant wyjaśniłby zjawisko zerowego odsetka zakażeń rany w grupie 100 operowanych zwierząt.

Podsumowując, praca jest napisana starannie, dobrym językiem, drobne błędy stylistyczne i interpunkcyjne nie umniejszają wartości pracy. Zastrzeżenia może budzić momentami edytorski aspekt pracy co oczywiście nie wpływa na jej ocenę merytoryczną. Uważam, że praca jest samodzielnym dorobkiem doktoranta, dowodzi umiejętności stawiania problemów badawczych, organizacji warsztatu badawczego, przedstawienia wyników badań i ich rzetelnej, krytycznej interpretacji. Praca odpowiada warunkom ustawowym stawianym rozprawom przy ubieganiu się o stopień doktora nauk medycznych.

Mam zatem zaszczyt wystąpić do Wysokiej Rady Naukowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarza **Piotra Ławniczaka** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Marek Dębski

MK 5

