



DZIEKANAT Wydziału Lekarskiego	
Wpłynęło Data	2019 -06- 18
L.dz.....	

Rzeszów, 13.06.2019

**Recenzja pracy doktorskiej lek. Wiktora Paskala  
pt. „Wpływ N-acetylocysteiny na gojenie ran chirurgicznych na modelu zwierzęcym”**

Proces gojenia ran to złożona i wieloetapowa kaskada zdarzeń, prowadząca do odtworzenia ciągłości tkanek i przywrócenia ich prawidłowej funkcji, zapewniająca tym samym utrzymanie integralności i homeostazy organizmu. Zaburzenia procesu gojenia się ran wpływa na opóźnienie powrotu do zdrowia pacjentów po zabiegach chirurgicznych, sprzyja powikłaniom, w tym zakażeniom bakteryjnym, a w konsekwencji pogarszają krótkoterminowe i długoterminowe wyniki leczenia chirurgicznego. Zaburzenie procesu gojenia się ran sprzyja także powstawaniu szpecących blizn. Upośledzenie procesów gojenia ran jest powodowanych przez szereg powszechnie występujących schorzeń, takich jak miażdżyca, cukrzyca, hipoalbuminemia czy przewlekła niewydolność żylna, które mogą prowadzić do tworzenia się niegojących, przewlekłych owrzodzeń, będących powodem cierpienia tych osób, istotnie upośledzających jakość ich życia oraz przyczyniających się do istotnego wzrostu chorobowości, zniechęcenia, a nawet śmiertelności.

Mając na względzie liczbę wykonywanych rokrocznie zabiegów chirurgicznych z naruszeniem ciągłości tkanek, liczbę ran powstałych w wyniku różnego rodzaju zdarzeń losowych czy wypadków oraz częstość występowania ran przewlekłych, należy podkreślić, że zbadanie mechanizmów molekularnych procesu gojenia jest istotne nie tylko w charakterze poznawczym, ale ma przede wszystkim bardzo duże znaczenie kliniczne i praktyczne. Od wieków podejmowane są wszelkiego rodzaju próby leczenia farmakologicznego czy też wykonywania różnych zabiegów terapeutycznych, które mają przyspieszyć gojenie się ran, nadal jednak w wielu przypadkach tego typu próby są dalece nieskuteczne, a nierzadko wręcz przynoszą odwrotny skutek. Z tego powodu na świecie prowadzi się obecnie wiele badań mających na celu dokładniejsze poznanie procesu gojenia się ran i opracowanie nowych metod terapii, zarówno w wiodących ośrodkach akademickich, jak i przez przemysł farmaceutyczny. Tym samym przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, której celem jest poznanie wpływu N-acetylocysteiny na proces gojenia się ran chirurgicznych, doskonale wpisuje się w aktualnie prowadzony nurt badań naukowych.



Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma układ typowy dla tego typu prac naukowych. Maszynopis liczy 94 strony i składa się ze spisu treści, wykazu użytych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstępu, założeń i celów pracy, opisu materiału i zastosowanych metod badawczych, wyników, dyskusji, wniosków oraz spisu piśmiennictwa. Podział tekstu na podrozdziały porządkuje tekst i ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z poszczególnymi fragmentami rozprawy doktorskiej. W pracy zamieszczono także 15 zestawień tabelarycznych i 22 ryciny, które stanowią cenne uzupełnienie opisu metod badawczych i uzyskanych wyników. Całość rozprawy została przygotowana bardzo starannie, przejrzysto i jest napisana poprawną polszczyzną.

We wstępie, który obejmuje 11 stron maszynopisu, Autor rozprawy przedstawił klasyfikację ran, ewentualne powikłania związane z wytworzeniem ran chirurgicznych, w szczególności sposób zaznajamiania czytelnika z poszczególnymi fazami gojenia się ran, jak również opisuje procesy molekularne, jakie zachodzą w trakcie gojenia się rany. Ważnym elementem Wstępu jest także wytłumaczenie potencjalnej korzystnej roli, jaką mogłaby odgrywać N-acetylocysteina w procesie się ran w oparciu o jej właściwości chemiczne i działanie biologiczne oraz zaznajomienie czytelnika z modelami zwierzęcymi wykorzystywanymi w badaniach nad gojeniem się ran oraz sposobami oceny poszczególnych etapów gojenia. Wstęp stanowi doskonale wprowadzenie do dalszych etapów rozprawy doktorskiej, stanowi przegląd aktualnego piśmiennictwa w zakresie tematyki gojenia się ran i w pełni tłumaczy zasadność podjętej przez doktoranta celów pracy badawczej.

W oparciu o dokonany przegląd piśmiennictwa doktorant formułuje cel badania, którym była ocena wpływu podanej w trakcie dokonywania znieczulenia miejscowego N-acetylocysteiny na późniejszy proces gojenia się ran chirurgicznych. Zgodnie z przedstawionym przez Autora założeniem, N-acetylocysteina, jako tzw. „wymiatacz wolnych rodników”, mogłaby potencjalnie wpłynąć na ograniczenie reaktywnych form tlenu w środowisku gojącej się rany, a tym samym ograniczyć nasilenie stanu zapalnego oraz zmniejszyć uszkodzenie tkanek, co ostatecznie mogłoby przyczynić się do skrócenia gojenia się rany i poprawy odległego wyniku leczenia.

Przeprowadzone przez doktoranta badania zostały zaaprobowane przez odpowiednią Komisję Etyczną. W badaniu wykorzystano 24 szczury, u których w znieczuleniu miejscowym wykonano na grzbiecie 6 liniowych nacięć długości 1,5 cm. W trakcie wykonywania znieczulenia miejscowego, w miejscu planowanych 3 nacięć podawano środek



miejscowo znieczulający z adrenaliną z dodatkiem N-acetylocysteiny w trzech stężeniach (0,015%, 0,03% lub 0,045%), natomiast w miejscu pozostałych trzech planowanych nacięć podano tylko lidokainę z adrenaliną, traktując te miejsca jako miejsca nacięć kontrolnych. W 3., 7., 14. i 60. dobie od wykonania nacięć zwierzęta zważono i dokonano ich eutanazji (po 6 osobników), pobierając całą ranę/bliznę, którą dzielono na 3 części i zachowywano do dalszych analiz. Z pobranych tkanek wykonano preparaty histologiczne z wykorzystaniem szeregu barwień, które następnie poddano ocenie klasycznej lub zautomatyzowanej. Z bioptatów skóry wyizolowano również RNA, a następnie metodą qRT-PCR wykonano oznaczenie ekspresji 88 genów związanych z procesem gojenia ran. Makroskopowy efekt gojenia oceniono dokonując pomiarów wielkości blizn na podstawie wykonanej dokumentacji fotograficznej w 11 punktach czasowych. Całość wyników poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem odpowiednio dobranych testów statycznych.

Oceniając dobór zastosowanych metod badawczych należy podkreślić ich innowacyjność, jak również szeroki zakres dokonanych ocen i analiz. Szczegółowy opis wykorzystanych technik badawczych świadczy o bardzo dobrym zaznajomieniu się z nimi przez Autora i samodzielnym wykonaniu wszystkich elementów badania. Warto także podkreślić odpowiednio dobrane czasokresy dokonywania poszczególnych oznaczeń, które odpowiadają różnym fazom procesu gojenia się ran. Na uznanie zasługują także dołączone do opisu metod badawczych autorskie, starannie wykonane ryciny i zestawienia tabelaryczne, które ułatwiają czytelnikowi zrozumienie poszczególnych analiz i znacząco podnoszą wartość tej części rozprawy doktorskiej.

W toku dokonanych oznaczeń wykazano, że podanie okołoznieczuleniowo N-acetylocysteiny powoduje istotną zmianę profilu ekspresji genów szeregu cytokin, chemokin, czynników wzrostowych oraz innych genów związanych z remodelingiem blizny pooperacyjnej, zwłaszcza czynnika HIF1 $\alpha$ . Zmianom ekspresji genów towarzyszyło zmniejszenie szerokości i powierzchni rany w analizie makroskopowej w 3 i 4 dobie od dokonania nacięcia w miejscu podania N-acetylocysteiny w stężeniu 0,03%. Nie zaobserwowano natomiast, aby N-acetylocysteina w zakresie testowanych stężeń powodowała istotne modyfikacje w budowie histologicznej skóry. Zmianom ekspresji genów towarzyszyły także zmiany w liczbie komórek nacieku zapalnego wykazujących ekspresję antygenów CD31 oraz CD68 w 14. dobie gojenia. Poszczególne elementy Wyników poparte



są odpowiednią dokumentacją zdjęciową uwiarygadniającą rezultaty badań przedstawionych w formie wykresów czy zestawień tabelarycznych.

Uzyskane przez Autora wyniki zostały porównane z wynikami przedstawionymi przez innych badaczy. Podobnie jak we wprowadzeniu, również w dyskusji Doktorant wykazał się dobrą znajomością badanego zagadnienia, biegłością w wyszukiwaniu adekwatnych dla danej tematyki opracowań naukowych oraz umiejętnością porównania własnych wyników z wynikami innych autorów. Dyskusja prowadzona jest dojrzałe, a Autor starannie wyważa formułowane stwierdzenia i krytycznie odnosi się do własnych badań, podkreślając konieczność ich kontynuowania, jednocześnie wskazując możliwe kierunki dalszych analiz, które pogłębią naszą wiedzę na temat procesu gojenia ran i możliwości jego modyfikacji. Dyskusja kończy się krótkim podsumowaniem oraz sformułowaniem podstawowego wniosku wynikającego z przeprowadzonych badań, że N-acetylocysteina w stężeniu 0,03% w roztworze znieczulającym podanym przed nacięciem skóry wpływa korzystnie na proces gojenia ran bez uchwytanych działań niepożądanych.

Spis piśmiennictwa obejmuje 157 pozycji, w większości aktualnych, publikowanych w wiodących periodykach o zasięgu międzynarodowym. Cytowanie poszczególnych pozycji piśmiennictwa jest prawidłowe, a sam spis przygotowany starannie, zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami dla tego typu rozpraw naukowych.

Podsumowując, oceniam rozprawę doktorską lek. Wiktora Paskala ze wszech miar pozytywnie. Na wyraźne podkreślenie i uznanie zasługują innowacyjna tematyka podjętego zagadnienia badawczego, dobór nowoczesnych technik badawczych, dbałość o szczegóły oraz szerokie i wielowymiarowe przeprowadzenie analiz naukowych. Wysoka jakość, istotna wartość poznawcza oraz duże znaczenie kliniczne uzyskanych wyników niewątpliwie umożliwi ich opublikowanie w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Realizacja założonych celów badawczych, bardzo dobrze dobrane i zastosowane metody badawcze, a także swobodne poruszanie się w zakresie tematyki realizowanego zagadnienia wskazują, że Doktorant jest osobą umiejacą zaplanować i prawidłowo przeprowadzić badanie naukowe, sformułować wnioski i krytycznie omówić uzyskane wyniki.

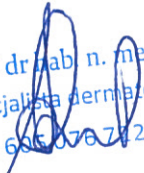
Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr. 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami), w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia



## Zakład i Klinika Dermatologii, Uniwersytet Rzeszowski

3 lipca 2019 Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018, poz. 1669 z późn. zmianami). W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Wiktora Paskala do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, mając na względzie innowacyjny charakter przeprowadzonych badań, wysokie walory poznawcze uzyskanych wyników, ich ciekawy sposób prezentacji oraz niezmiernie staranne przygotowanie rozprawy doktorskiej, pragnę zgłosić wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej lek. Wiktora Paskala.

Z wyrazami szacunku i poważania,

  
Prof. dr hab. n. med. Adam Reich  
specjalista dermatolog-wenerolog  
tel. 695 076 712 1414536