

Katowice, 18.07.2025

**Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu lek. Damiana Sieńko
pt.: „Wpływ wybranych parametrów na metabolizm ludzkich mezenchymalnych komórek
macierzystych oraz ich potencjał regeneracyjny w terapii leczenia ran.”**

Cukrzyca stanowi jedno z najpoważniejszych wyzwań współczesnej medycyny, ze względu na stały wzrost częstości jej występowania oraz indukcję licznych, trudnych do leczenia powikłań. Jednym z najpoważniejszych i zarazem najczęstszych powikłań mikro i makroangiopatycznych jest zespół stopy cukrzycowej, będący główną przyczyną amputacji niezwiązanych z urazami oraz najczęstszą przyczyną hospitalizacji pacjentów chorujących na cukrzycę. W codziennej praktyce klinicznej w leczeniu owrzodzeń w przebiegu ZSC stosuje się przede wszystkim metody mające na celu redukcję obciążenia uszkodzonej stopy (odciążanie), odpowiednią kontrolę zakażenia (antybiotykoterapię celowaną, interwencje chirurgiczne), poprawę ukrwienia (leczenie rewaskularyzacyjne), a także skuteczną kontrolę glikemii. Mimo tych wysiłków, wiele ran jest trudnych do wyleczenia, zwłaszcza w zaawansowanych stadiach niedokrwienia i/lub neuropatii. Ze względu na niewystarczającą skuteczność obecnych metod leczenia trudno gojących się ran w przebiegu cukrzycy, intensywnie prowadzi się badania nad nowymi strategiami terapeutycznymi.

Jednym z obszarów szczególnego zainteresowania jest zastosowanie mezenchymalnych komórek macierzystych, które ze względu na swój potencjał regeneracyjny i immunomodulacyjny mogą stanowić ważne wsparcie w terapii ran przewlekłych. MSC warunkach in vitro wykazują zdolność różnicowania się m.in. w kierunku osteocytów, chondrocytów i adipocytów, a także wyróżniają się wydzielaniem licznych czynników wzrostu (np. VEGF, FGF czy HGF), cytokin immunomodulujących i białek o działaniu przeciwzapalnym.

Z tego powodu MSC były już testowane w wielu modelach regeneracji tkanek, w tym w gojeniu ran skórnych czy regeneracji mięśnia sercowego.

Statyny, powszechnie stosowane w leczeniu chorych na hipercholesterolemię, wykazując tzw. efekty plejotropowe mogą wpływać m.in. na proces zapalny, funkcję śródbłonna, czy angiogenezę. W kontekście gojenia ran, których dotyczy niniejsza rozprawa doktorska, interesujące są doniesienia, że statyny mogą modulować aktywność MSC - zarówno w zakresie pobudzania proliferacji tych komórek, jak i zwiększania ich potencjału parakrynnego. W hodowli komórek zwierzęcych wykazano, że statyny hamują w MSC szlak apoptozy indukowanej hipoksją i nasilają proces autofagii.

Hipoksja stanowi jeden z istotnych czynników patogenetycznych w procesie rozwoju stopy cukrzycowej. Niedotlenienie tkanek pogarsza rokowanie co do wygojenia ran, zwłaszcza w obecności infekcji. Z drugiej strony, istnieją jednak doniesienia sugerujące, że krótkotrwała ekspozycja MSC na warunki niedotlenienia może wzmacniać ich potencjał regeneracyjny oraz wydzielanie cytokin i czynników wzrostu.

Zatem połączenie statyn i kontrolowanej hipoksji w kontekście prekondycjonowania MSC wydaje się szczególnie obiecujące, gdyż oba czynniki - choć różnymi szlakami - mogą poprawiać zdolności regeneracyjne tych komórek.

Głównym celem rozprawy doktorskiej jest zbadanie wpływu statyn oraz hipoksji na wybrane parametry metaboliczne mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) oraz ocena potencjału terapeutycznego tych komórek, zwłaszcza w kontekście leczenia trudno gojących się ran w przebiegu cukrzycy (w tym zespołu stopy cukrzycowej)

Przedstawiona do oceny rozprawa składa się z trzech opublikowanych i spójnych tematycznie prac, opatrzonych odpowiednimi komentarzami. Prace zostały opublikowane w latach 2020-2024. Doktorant jest pierwszym autorem dwóch z trzech przedstawionych mi do wglądu artykułów.

W pracy nr 1, pt. ***"The influence of oxygen deprivation and donor age on the effect of statins on human mesenchymal stromal cells"*** Tissue and Cell; 2020; Praca oryginalna (IF= 2,466 MNiSW: 40) Doktorant koncentruje się na ocenie wpływu statyn oraz stężenia tlenu na MSC. Autorzy przeprowadzili serię doświadczeń, w których badano przede wszystkim proliferację oraz żywotność MSC pochodzących ze szpiku kostnego po ekspozycji na różne

stężenia atorwastatyny i rosuwastatyny. Jednocześnie komórki hodowano w warunkach normoksji (21% O₂) i hipoksji (2% O₂), aby odwzorować możliwe warunki panujące w tkankach niedotlenionych, co jest szczególnie istotne w stanach niedokrwienych. Wyniki wskazują, że choć obie statyny w warunkach hipoksji zwiększały indeks proliferacji MSC, to atorwastatyna wykazywała bardziej stabilny profil bezpieczeństwa, z niewielkim efektem cytotoksycznym w porównaniu z rosuwastatyną. Natomiast w warunkach normoksji atorwastatyna istotnie sprzyjała proliferacji komórek, jednocześnie nie zwiększając ich apoptozy. Dodatkowo, nie stwierdzono znaczących różnic w odpowiedzi na statyny pomiędzy grupami komórek pozyskanych od młodszych oraz starszych dawców, co może sugerować podobną zdolność terapeutyczną komórek niezależnie od wieku.

W pracy nr 2, pt. „**Allogenic Adipose-Derived Stem Cells in Diabetic Foot Ulcer Treatment: Clinical Effectiveness, Safety, Survival in the Wound Site, and Proteomic Impact**” (International Journal of Molecular Sciences; 2023; Praca oryginalna (IF= 4,9 MNiSW: 140)) Autorzy zastosowali allogeniczne ADSC w leczeniu owrzodzeń w zespole stopy cukrzycowej. Chorych z zespołem stopy cukrzycowej o etiologii neuropatycznej podzielono na dwie grupy - w jednej grupie zastosowano klej tkankowy niezawierający komórek, w drugiej podano do zmiany troficznej ten sam preparat, lecz z dodatkiem allogenicznych ADSC. Wyniki potwierdziły istotne, statystycznie znaczące przyspieszenie gojenia ran w grupie otrzymującej ADSC. Zaobserwowano krótszy czas do zredukowania rozmiaru rany o 50%, częstsze całkowite zagojenie oraz brak istotnych działań niepożądanych związanych z użyciem allogenicznych ADSC. Dodatkowo Autorzy przeprowadzili analizę proteomiczną materiału uzyskanego z łożyska rany, a także potwierdzili obecność komórek dawcy nawet do kilku tygodni po aplikacji. Dzięki temu uchwyciono możliwy mechanizm molekularny działania ADSC - przede wszystkim w zakresie modulacji odpowiedzi zapalnej oraz wsparcia procesów angiogenezy.

Praca nr 3, pt. „**The Potential of Mesenchymal Stem/Stromal Cells in Diabetic Wounds and Future Directions for Research and Therapy-Is It Time for Use in Everyday Practice?**” (International Journal of Molecular Sciences; 2024; Praca poglądowa (IF=4,9 MNiSW: 140)) stanowi przegląd literatury na temat wykorzystania mezenchymalnych komórek zrębowych w leczeniu ran u pacjentów z cukrzycą, skupiając się w szczególności na owrzodzeniach stopy

cukrzycowej. Autorzy omawiają patofizjologiczne aspekty zaburzonego gojenia ran w cukrzycy, w tym roli endoteliopatii, neuropatii i immunopatii, oraz analizują najnowsze wyniki badań wskazujące na skuteczność MSC w terapii komórkowej. W przeglądzie wyróżniono kilka mechanizmów działania MSC, w tym ich zdolność do immunomodulacji (np. hamowanie nadmiernej reakcji zapalnej), wspierania angiogenezy i produkcji czynników wzrostu czy regulacji przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej. Omówiono też nowe strategie mające na celu optymalizację terapii, np. prekondycjonowanie komórek w warunkach hipoksji, inżynierię genetyczną lub łączenie MSC z nośnikami hydrożelowymi. Autorzy wskazują na konieczność prowadzenia dalszych, większych badań klinicznych, niezbędnych do ujednolicenia protokołów podawania MSC i potwierdzenia bezpieczeństwa oraz trwałości efektu terapeutycznego w codziennej praktyce.

Na podstawie cyklu publikacji i poczynionych tam obserwacji Doktorant wyciągnął następujące wnioski:

1. Zastosowanie statyn może korzystnie modulować aktywność MSC w warunkach ograniczonej dostępności tlenu. W szczególności atorwastatyna wydaje się wykazywać stabilny profil bezpieczeństwa i zwiększać tempo proliferacji MSC, co podkreśla jej potencjał we wspieraniu terapii opartych na komórkach macierzystych, zwłaszcza w modelach niedotlenienia.
2. ADSC mogą istotnie usprawniać proces gojenia ran w zespole stopy cukrzycowej, co potwierdzono w badaniu klinicznym opisanym w pracy nr 2. Przyspieszone zmniejszanie się obszaru rany oraz większy odsetek całkowitego wygojenia wskazują na potencjał ADSC w terapii trudno gojących się owrzodzeń, przy jednocześnie niskim ryzyku powikłań.
3. Analizy proteomiczne potwierdzają molekularne podstawy korzystnego działania MSC, w tym modulację procesów zapalnych i wsparcie angiogenezy. Obserwowana obecność allogenicznych MSC w łożysku rany przez kilka tygodni po podaniu sugeruje, że komórki te aktywnie uczestniczą w procesie regeneracji tkanek i mogą sprzyjać uruchamianiu lokalnych szlaków naprawczych.

4. Szeroki zakres immunomodulacyjnych, angiogennych i regeneracyjnych właściwości MSC (zarówno w warunkach in vitro, jak i in vivo) stanowi przesłankę do dalszego rozwijania zaawansowanych terapii komórkowych w leczeniu przewlekłych ran, zwłaszcza w przebiegu cukrzycy. Przegląd dotychczasowych doniesień wskazuje, że łączenie MSC z innowacyjnymi technologiami (np. hydrożelami, modyfikacjami genetycznymi) może dodatkowo poprawiać efektywność terapii.

5. Konieczne jest kontynuowanie badań klinicznych i standaryzacja protokołów terapeutycznych, obejmująca m.in. dobór optymalnego źródła komórek, sposób ich przygotowania i aplikacji, a także ścisłą kontrolę parametrów bezpieczeństwa. Uzyskane dotąd wyniki są obiecujące i otwierają drogę do wprowadzenia terapii z udziałem MSC do rutynowej praktyki klinicznej, jednak kluczowe pozostaje przeprowadzenie dalszych badań z większą liczbą pacjentów i dłuższą obserwacją.

Uwagi recenzenta

Większość przedstawionego materiału została oceniona przez recenzentów odpowiednich czasopism naukowych. Dlatego rozprawa nie pozostawia wiele miejsca na dodatkowe uwagi. Pozostają banalne spostrzeżenia o charakterze korektorskim. Purysta językowy wolałby, aby używać określeń: zmniejszone stężenie tlenu, a nie obniżone; zmniejszenie obciążenia a nie redukcję obciążenia; mała lub zmniejszona podaż tlenu, a nie niska podaż; liczba ta może się zwiększyć a nie wzrosnąć. Powyższe uwagi w żadnym stopniu nie wpływają na merytoryczną ocenę pracy.

Podsumowanie

Podsumowując swoją opinię stwierdzam, że przedstawiona rozprawa **lek. Damiana Sieńko** jest jego oryginalnym osiągnięciem i stanowi istotny wkład do aktualnej dyskusji na temat potencjalnych możliwości leczenia chorych z owrzodzeniami kończyn w przebiegu cukrzycy, w tym z wykorzystaniem mezenchymalnych komórek macierzystych. Doktorant wykazał się bardzo dobrą znajomością tematu oraz zdolnością syntetycznego ujmowania

złożonych problemów klinicznych. W przedstawionych pracach udowodnił także swoją umiejętność krytycznego dyskutowania uzyskanych wyników.

Przedstawiona 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). Dlatego mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Warszawie wniosek o dopuszczenie lek. Damiana Sieńko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Michał Holecki

