

Prof. dr hab. n. med. Elżbieta Gawrych
Klinika Chirurgii Dziecięcej i Onkologicznej
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Lekarza Piotra Sołtysiaka z Kliniki Chirurgii Dziecięcej UJ CM w Krakowie
„Zastosowanie inżynierii tkankowej w leczeniu długoodcinkowych postaci wrodzonego zarośnięcia przełyku”

Leczenie wrodzonego zarośnięcia przełyku, jednego z najcięższych zaburzeń rozwojowych, to niewątpliwie ogromne wyzwanie dla chirurga.. Podstawowym założeniem operacyjnego leczenia tej złożonej wady jest rekonstrukcja zarośniętych odcinków i odtworzenie pełnej ciągłości przełyku. Pierwotne zespolenie jest zwykle niemożliwe w postaci długoodcinkowej, a inne sposoby operacyjne nie są pozbawione powikłań i wiążą się z koniecznością wieloetapowego postępowania. Do chwili obecnej nie rozstrzygnięto dylematu optymalnego rozwiązania w przypadku niedrożności długoodcinkowej. Poszukiwanie zatem nowych sposobów leczenia tej wady jest uzasadnione z klinicznego punktu widzenia. Autor podjął się tego trudnego zadania próbując opracować model doświadczalny hodowli komórkowej, przeniesienie hodowanych komórek na rusztowania, a potem przeszczepienia całej konstrukcji w żywy organizm zwierzęcy. Inżynieria tkankowa staje się niewątpliwie obszarem nauki, która współcześnie stwarza ogromne możliwości rekonstrukcji brakujących tkanek w organizmie człowieka. Uważam, że podjęte przez autora badania są niezwykle wartościowe i w pełni uzasadnione z klinicznego punktu widzenia, ponieważ dają ogromną szansę zastosowania ich w chirurgii regeneracyjnej w niedalekiej przyszłości.

Przedstawiona mi do oceny praca spełnia pod względem formalnym wszystkie wymagania stawiane rozprawom na stopień doktora medycyny. Dysertacja obejmuje cykl trzech monotematycznych prac opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej o łącznym IF 5,16. Doktorant jest pierwszym autorem w dwóch opublikowanych pracach i kolejnym autorem w trzeciej publikacji.

W pracy zatytułowanej "Comparison of suturing techniques in the formation of collagen scaffold tubes for composite tubular organ tissue engineering" autor próbuje określić możliwości formowania tubularnych struktur z rusztowań kolagenowych w inżynierii tkankowej przelyku. W eksperymencie zastosował 4 techniki szycia chirurgicznego z użyciem szwu monofilamentowego oraz plecionego, zwracając szczególną uwagę na stopień łatwości szycia, wiązanie oraz stopień skrętu rusztowania. Postanowił także zbadać zachowanie się szyczego polimeru, zarówno w stanie suchym jak i wilgotnym. Aby uniknąć ludzkiego błędu, wszystkie sposoby zakładania szwów wykonał ten sam badacz – ma to istotne znaczenie w opracowywaniu wyników. Ocena kształtu rusztowania, jak i morfologii zewnętrznej powierzchni konstrukcji dokonana została na podstawie obrazów w mikroskopie elektronowym. Uzyskane wyniki autor przedstawił precyzyjnie w formie opisowej, ale również bardzo przejrzystie udokumentował na rycinach i fotografiach. Pozwala to czytającemu lepiej zrozumieć samą technikę szycia i ocenić zachowanie się zeszytej tkanki. Na podstawie osiągniętych wyników autor stwierdził, że najkorzystniejszą techniką szycia jest szew ciągły monofilamentowy zakładany przez krawędzie zanurzonego w wodzie polimeru. Wybór techniki szycia i materiału chirurgicznego ma istotne znaczenie w chirurgii przelyku, zwłaszcza okresu noworodkowego. Odpowiedni sposób zakładania szwów, rodzaj igły oraz nici, których struktura determinuje ich późniejsze właściwości, takie jak łatwość manipulowania, odczyn tkankowy, odporność na rozciąganie oraz jakość węzła wpływa niewątpliwie na proces gojenia tkanek. W eksperymencie tym, autor udowodnił możliwość

tworzenia tubularnych konstrukcji zawierających różne linie komórkowe, które morfologicznie odpowiadają naturalnej tkance przewodu pokarmowego.

W pracy „Micro-computed tomography for implantation site imaging during in situ esophagus tissue engineering in a live small animal model” ocenie poddane zostały badania obrazowe jamy brzusznej szczurów, którym wcześniej implantowano konstrukcje tubularnych, kolagenowych rusztowań z wysianymi komórkami nabłonka przełyku dorosłych gryzoni. Mikrotomografia komputerowa w rekonstrukcji 3D wykonywana w okresie 6 miesięcy po implantacji pozwoliła zlokalizować wszytą w sieć konstrukcję, a w przypadkach rozerwania sieci - identyfikować miejsce przemieszczenia implantu. Dzięki badaniu mikroTK, możliwa była obserwacja położenia konstrukcji, rozwoju hodowanej tkanki, unaczynienia i ewentualnej reakcji sąsiadujących narządów w jamy brzusznej zwierzęcia.

W powtarzanych badaniach obrazowych, autor nie obserwował zwłóknienia ani zmian w morfologii sąsiadujących z implantem narządów. Autor przedstawił niezmiernie ważny aspekt inżynierii tkankowej in situ, mianowicie proces angiogenezy w implantowanej konstrukcji widoczny w badaniu obrazowym.

Założeniem pracy „Esophagus tissue engineering: in situ generation of rudimentary tubular vascularized esophageal conduit using the ovine model” była próba wytworzenia tkanki przełyku metodami inżynierii tkankowej i ocena zachowania się tej tkanki po wszczepieniu do sieci owiec. Badania morfologiczne i histologiczne usuniętej tkanki wykazały po 8 tygodniach rozrost komórkowy w porowatych przestrzeniach kolagenowego rusztowania i obszary morfologicznie odpowiadające prawidłowemu nabłonkowi przełyku. Po 12 tygodniach widoczne było nowotworzenie naczyń w obwodowej warstwie rusztowania. Wytworzenie sieci naczyń krwionośnych, które z jednej strony zapewnią tkance perfuzję, z drugiej zaś wykażą zdolność łączenia się z naczyniami tkanki macierzystej warunkują przeżycie przeszczepionej tkanki i dalszy prawidłowy jej rozwój. Wyniki badań

doświadczalnych przedstawione przez autora pozwalają mieć nadzieję, że inżynieria tkankowa to niewątpliwie przyszłość medycyny regeneracyjnej. Ustawicznie ewoluujące nowe techniki hodowli pojedynczych komórek bądź tkanek poza żywym organizmem pozwalają wierzyć w możliwość zastąpienia ubytków tkanek lub całych narządów – materiałem posiadającym strukturę biochemiczną tkanki naturalnej.

W mojej opinii, doktorant będąc chirurgiem dziecięcym posiadał ogromną wiedzę z zakresu inżynierii tkankowej, dziedziny, która dopiero wkracza w medycynę.. Za szczególnie wartościowe i świadczące o dojrzałości autora, jako badacza, należy uznać próbę podjęcia badań eksperymentalnych w uzyskaniu tkanki, która mogłaby zastąpić brakujący odcinek zarośniętego przełyku u noworodka – problem niezmiernie ważny w chirurgii wad wrodzonych.

Wybór tematu jest trafny i uzasadniony, autor wskazał na możliwości zastosowania inżynierii tkankowej w praktyce klinicznej. Cele pracy sformułowane są jednoznacznie, a wnioski w pełni odpowiadają założeniom. Ocena wyników dokonana na podstawie precyzyjnej analizy jest prawidłowa i obejmuje wszystkie elementy zawarte w metodyce badań. Ryciny są przejrzyste i zrozumiałe, a odpowiednio do treści cytowane współczesne piśmiennictwo świadczy o dużej wiedzy autora obejmującej przedstawioną w pracy problematykę.

Dlatego zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lekarza Piotra Sołtysiaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Praca pod tytułem „Zastosowanie inżynierii tkankowej w leczeniu długoodcinkowych postaci wrodzonego zarośnięcia przełyku” spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim przewidziane ustawą. Nie mam żadnych zastrzeżeń do strony merytorycznej pracy.

Ponadto, z racji dużej wartości naukowej i ogromnej szansy na praktyczne zastosowanie kliniczne uzyskanych przez autora wyników zwracam się do Wysokiej Rady o wyróżnienie dysertacji pt. „Zastosowanie inżynierii tkankowej w leczeniu długoodcinkowych postaci wrodzonego zarośnięcia przetyku” summa cum laude.

Elżbieta Gawrych