

**Katedra Fizjoterapii i Zakład Fizykoterapii i Odnowy Biologicznej
Akademii Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego
Poznań ul. Droga Dębińska 10, 61-555 Poznań**

prof. dr hab. Anna Straburzyńska-Lupa

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Bogny Szoltys-Brzezowskiej nt. „Zmiany pola powierzchni odleżyn oraz ekspresja genów wybranych metaloproteinaz i transformującego czynnika wzrostu w odleżynach u ludzi po zastosowaniu elektrostymulacji wysokonapięciowej”- promotor dr hab. Anna Polak, prof. AWF

Trafność podjętej problematyki badawczej i jej oryginalność

Odleżyny, mimo wzrastającej liczby badań naukowych, nadal stanowią istotny problem kliniczny. Występują głównie u osób długotrwale unieruchomionych- na oddziałach szpitalnych, zakładach opiekuńczych, czy opiece domowej. W dużym odsetku dotyczą chorych po uszkodzeniach ośrodkowego układu nerwowego. Powodują ból i dyskomfort, mogą prowadzić do powikłań ogólnoustrojowych. Prowadzą do obniżenia jakości życia chorych. Profilaktyka i leczenie odleżyn wymaga specyficznego i kompleksowego postępowania, które jest często długotrwałe, kosztowne i wymaga zaangażowania wielu osób, m.in.: pielęgniarek, lekarzy, dietetyków, fizjoterapeutów, psychologów. W poszukiwaniu skutecznych i ekonomicznych metod postępowania zwrócono uwagę na zabiegi fizykalne, przy tym w ostatnich latach obserwuje się szczególnie wzrost zainteresowania elektrostymulacją. Wyniki prowadzonych w ostatnich latach badań klinicznych sprawiły, że elektrostymulacja została wymieniona w rekomendacjach klinicznych- międzynarodowych (*European Pressure Ulcer Advisory Panel, Pan Pacific Pressure Injury Alliance i National Pressure Ulcer Advisory Panel, 2019*) oraz polskich (*Polskie Towarzystwo Leczenia Ran, 2020*), jako metoda, która może być stosowana w leczeniu odleżyn II-IV stopnia. Wskazano przy tym elektrostymulację wysokonapięciową (EWN), jako zabieg mający największe naukowe uzasadnienie wynikające z badań klinicznych. Warto podkreślić i docenić, że w rekomendacjach cytowane są także wyniki badań zespołu polskiego, w którym ważną rolę pełniła Pani Profesor Anna Polak. Prowadzone dotychczas badania dotyczyły głównie oceny efektów gojenia się odleżyn wyrażonej zmianami pola powierzchni, istnieje więc potrzeba dalszych badań klinicznych uwzględniających także biologiczne mechanizmy warunkujące gojenie.

W świetle powyższego temat badań podjęty przez mgr Bognę Szoltys-Brzezowską jest merytorycznie uzasadniony, aktualny i jednocześnie o dużym znaczeniu praktycznym. Przy

tym badania przeprowadzone przez Doktorantkę zawierają nowatorskie elementy, gdyż dotąd nie oceniano w warunkach klinicznych wpływu elektrostymulacji wysokonapięciowej na stężenie czynników biologicznych w obrębie odleżyn (takich jak metaloproteiny i czynniki wzrostowe), które warunkują jej gojenie. Jednocześnie randomizowane badania charakteryzują się wysokim stopniem wiarygodności.

Rozprawa stanowi 106 stronicowe opracowanie o układzie typowym dla prac o awans naukowy. Składa się z 11 następujących rozdziałów: wprowadzenie, cele badania, metody, wyniki, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo, wykaz tabel i rycin, oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Na początku pracy znajduje się wykaz skrótów. Piśmiennictwo liczy 253 pozycje, w tym 250 pozycji anglojęzycznych, które wykorzystane zostały w pracy w sposób świadczący o dobrej znajomości omawianych zagadnień.

Wprowadzenie zostało zredagowane na 24 stronach i podzielone na 4 podrozdziały. Na początku Autorka przedstawiła fizjologiczny wzorzec gojenia się ran, fazy: hemostazy, zapalenia, proliferacji i przebudowy. Następnie omówiła mechanizmy prowadzące do powstania ran przewlekłych i przedstawiła 4-stopniową klasyfikacją odleżyn zgodną z międzynarodowymi wytycznymi grupy doradczej EPUAP/NPIAP/PPPIA (*European Pressure Ulcer Advisory Panel/National Pressure Injury Advisory Panel/Pan Pacific Pressure Injury Alliance, 2019*), która jest rekomendowana przez środowiska eksperckie. W kolejnym podrozdziale, w oparciu o dobrze dobrane piśmiennictwo, umiejętnie przedstawiła możliwości związane z wykorzystaniem elektrostymulacji w leczeniu ran przewlekłych. Na zakończenie zwróciła uwagę na nowatorskie aspekty badań własnych podkreślając, że jest to pierwsze badanie randomizowane z grupą kontrolną (*randomized controlled trial, RCT*), w którym oceniono postępy gojenia się odleżyn po stosowaniu anodowej i katodowej elektrostymulacji wysokonapięciowej (EWN), a także oceniono ekspresję genów wybranych metaloproteinaz oraz trzech izoform TGF- β .

Wstęp został napisany w sposób świadczący o dobrej znajomości piśmiennictwa i dużej wiedzy Autorki w zakresie omawianej tematyki, w tym dotychczasowego stanu badań. Stanowi dobre uzasadnienie podjętego tematu i pozwala na określenie celu badania.

Celem głównym badań było uzyskanie wiedzy na temat oddziaływania EWN na proces gojenia się odleżyn II-IV stopnia u osób po uszkodzeniach ośrodkowego układu nerwowego (OUN).

Szczegółowymi celami badań były odpowiedzi na pytania: czy i jakie zmiany pola powierzchni odleżyn występują po 1, 2, 3, i 4 tygodniu stosowania anodowej i katodowej EWN; czy i w jaki sposób anodowa i katodowa EWN wykonywana przez 2 i 4 tygodnie wpływa na ekspresję genów wybranych metaloproteinaz (MMP-1, MMP-2 i MMP-9) oraz poszczególnych izoform transformującego czynnika wzrostu- β (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3); oraz czy wystąpią istotne statystycznie i silne korelacje pomiędzy zmianami pola powierzchni odleżyn a ekspresją genów MMP-1, MMP-2 i MMP-9, TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 u badanych osób poddanych działaniu anodowej lub katodowej EWN.

Autorka jako **cel aplikacyjny** badań wskazała możliwości wykorzystania anodowej i katodowej EWN w leczeniu odleżyn II-IV stopnia u osób po uszkodzeniach OUN.

Cele są poprawne i zrozumiałe, aczkolwiek mogły zostać zredagowane w krótszej formie.

Metodologia. Autorka podała, że metody i wyniki badania przedstawione zostały zgodnie ze standardami CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*).

Badania będące przedmiotem rozprawy doktorskiej stanowiły część obszernego projektu badawczego realizowanego w AWF w Katowicach od 2014r., na który uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych w Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach 15.05.2014 roku (nr 4/2014). Badania zostały także prospektywnie zarejestrowane w *Australian-New Zealand Clinical Trial Registry*. Jak podała Doktorantka, część wyników badań projektu badawczego realizowanego w uczelni została już wcześniej opublikowana, ale nie dotyczy to wyników zawartych w aktualnie recenzowanej pracy doktorskiej.

Badanie zaplanowano i realizowano jako prospektywne, randomizowane badanie kliniczne obejmujące osoby z uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego, u których występowały odleżyny i które wyraziły zgodę na udział w badaniu. Autorka jako kryteria włączenia do badań podała, że mają to być osoby pełnoletnie, z odleżynami II, III i IV stopnia w lędźwiowo-krzyżowym obszarze tułowia, obręczy biodrowej i kończyn dolnych, a także ze stwierdzonym wysokim ryzykiem występowania odleżyn (powyżej 15 punktów w skali Waterlow). Jako kryteria wyłączenia z badań Autorka wymieniła: aktualnie leczone nowotwory złośliwe, alergie na standardowe środki lecznicze, odleżyny kwalifikujące się do leczenia chirurgicznego, odleżyny o polu powierzchni $< 0.5\text{cm}^2$, niewyrównana cukrzyca ($\text{HbA}_{1\text{C}} > 7\%$), odleżyny występujące na podudziach lub stopach u chorych z ostrą i przewlekłą niewydolnością żylną i cukrzycą, miejscowe przeciwwskazania do elektrostymulacji (ES): czarna martwica, zapalenie

kości, i w miejscu wykonywania zabiegów ES- aktualnie leczone lub przebyte nowotwory złośliwe oraz implanty metalowe i elektroniczne.

Pacjentów do badania kwalifikował lekarz; włączono 60 osób (w wieku 22- 78 lat), które losowo (z użyciem ponumerowanych kopert) przydzielono do trzech grup: dwóch grup eksperymentalnych (z EWN katodową lub anodową) i grupy kontrolnej (w której zabiegi EWN symulowano). Pacjentów i ich opiekunów, personel medyczny oraz badaczy- za wyjątkiem kierownika badania i głównego fizjoterapeuty programującego aparaty do elektrostymulacji- objęto zaślepieniem.

Odleżyny klasyfikowano zgodnie z międzynarodową czteropunktową skalą NPUAP/EPUAP z 2014 r. Oceny klinicznego postępu gojenia odleżyn dokonano biorąc pod uwagę zmiany ich pola powierzchni (cm^2), mierzone przy pomocy planimetru podłączonego do komputera wyposażonego w specjalne oprogramowanie. Pomiary dokonywane były bezpośrednio przed rozpoczęciem leczenia oraz po zakończeniu każdego kolejnego tygodnia na przestrzeni 4-tygodniowej obserwacji. W przypadku wcześniejszego zagojenia odleżyny zapisywano datę.

U 41 osób, które wyraziły zgodę na pobranie skrawków tkanek z odleżyn, przed i po zakończeniu 2 i 4 tygodnia leczenia dokonano oznaczeń ekspresji genów MMP i TGF- β . Badania molekularne zostały przeprowadzone w Zakładzie Biologii Molekularnej Katedry Biologii Molekularnej, Wydziału Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

U wszystkich pacjentów prowadzono podstawowe leczenie (ogólne oraz miejscowe odleżyn), zgodnie z zaleceniami lekarskimi, zależnie od stanu klinicznego pacjenta, w oparciu o rekomendacje kliniczne. W grupach eksperymentalnych stosowano dodatkowo na odleżynę zabiegi elektrostymulacji wysokonapięciowej w oparciu o metodykę stosowaną przez innych autorów w badaniach klinicznych. W grupie kontrolnej zabieg symulowano. Elektrode leczniczą (katodę lub anodę) układano na powierzchni oczyszczonej odleżyny, której dno wypełniano gazą nasączoną solą fizjologiczną i przykryte wilgotną gazą; elektrodę bierną na wilgotnym podkładzie w odległości co najmniej 15 cm od leczniczej. Stosowano impulsy elektryczne podwójne, szpiczaste, o częstotliwości 100 Hz i łącznym czasie trwania 154 μs . Natężenie wynosiło poniżej progu pobudliwości mięśni, wartość szczytowa prądu 0,36 A, ładunek elektryczny dostarczany do tkanek 360 $\mu\text{C/s}$. Zabiegi przeprowadzano 1x dziennie przez 50 min, 5 dni w tygodniu, przez kolejne 4 tygodnie- łącznie 20 zabiegów. Opis metodyki elektrostymulacji wysokonapięciowej uzupełniono 4 rycinami.

Na zakończeniu tego rozdziału Autorka szczegółowo opisała zaplanowane efekty końcowe badania- główny i drugorzędne.

Autorka prawidłowo zaplanowała i opisała dobór chorych uwzględniający kryteria włączenia i wyłączenia z badania, ich losowy przydział do grup, postępowanie i metody oceny. Załączone ilustracje stanowią dobre dopełnienie opisu metodyki zabiegów. Wydaje się jednak, że pewne podrozdziały, np. efekty końcowe badania, mogły zostać przedstawione w krótszej formie. Zabrakło w tym rozdziale bardziej szczegółowego opisu grupy badanej: gdzie badania były prowadzone i z jakimi jednostkami chorobowymi kwalifikowano chorych do badań- tą informację znaleźć można dopiero w rozdziale Wyniki.

Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o program Statistica (wersja 13.1) korzystając z poprawnie dobranych i opisanych testów.

Wyniki badań zawarto w oddzielnym liczącym 9 stron rozdziale, podzielonym na 4 podrozdziały. Zostały one przedstawione w sposób jasny i czytelny w 7 tabelach i na 2 rycinach, które uzupełniono szczegółowymi opisami. Na początku tego rozdziału Autorka zamieściła szczegółową informację dotyczącą czasu i sposobu naboru do badań uzupełnioną schematem badania (ryc.5) oraz przedstawiła charakterystykę badanych i ocenę jednorodności grup przed badaniem.

Przed interwencją wykazano, że relatywna ekspresja mRNA TGF- β 3 była istotnie mniejsza w grupach z anodową i katodową elektrostymulacją w stosunku do grupy kontrolnej. Jednocześnie zwraca uwagę w tabeli 4 różnica pola powierzchni odleżyn pomiędzy grupami eksperymentalnymi, a grupą kontrolną. Po terapii wykazano w obu grupach eksperymentalnych (anodowa lub katodowa EWN) istotne zmniejszenie pola powierzchni odleżyn w 2., 3. i 4. tygodniu leczenia. Nie wykazano w żadnej z grup istotnych zmian w poszczególnych punktach czasowych w zakresie relatywnej ekspresji mRNA MMP-1, MMP-2 i MMP-9, a także TGF- β 1, TGF- β 2 i TGF- β 3. Natomiast, co interesujące, obserwowano po 2 tygodniach istotne zwiększenie mRNA TGF- β 3 w grupie z elektrostymulacją katodową w porównaniu do anodowej, osiągające poziom nie różniący się istotnie od grupy kontrolnej. Po 4 tygodniach mRNA TGF- β 3 w grupie z elektrostymulacją katodową uległo zmniejszeniu w porównaniu do stanu po 2 tygodniach interwencji i nie było już istotnie wyższe w porównaniu do grupy z elektrostymulacją anodową, ale nadal porównywalne z poziomem w grupie kontrolnej. Nie odnotowano istotnych i silnych korelacji pomiędzy ekspresją genów MMP-1, MMP-2 i MMP-9 oraz TGF- β 1 oraz TGF- β 2 i TGF- β 3, a zmianami pola powierzchni odleżyn.

Rozdział **Dyskusja** podzielono na 4 podrozdziały, napisany został w sposób świadczący o dobrej znajomości piśmiennictwa i umiejętności prowadzenia dojrzałych rozważań naukowych. W pierwszych podrozdziałach Doktorantka umiejętnie przeprowadziła analizę wyników badań własnych, w oparciu o dobrze dobrane ogólnoswiatowe piśmiennictwo, podsumowując tę część, że wyniki badań wskazują na pozytywny wpływ EWN na zmniejszenie pola powierzchni odleżyn u ludzi, ale jednocześnie powinny stanowić zachętą do ich kontynuowania dla potwierdzenia wpływu EWN katodowej na ekspresję genów izoform TGF- β w ranie. Wydaje się przy tym, iż pomimo że w wynikach przedstawiano procentowe zmiany pola powierzchni odleżyn w czasie, to podczas przygotowywania artykułu można by zastanowić się jeszcze, czy wielkość powierzchni odleżyn może mieć wpływ na prędkość jej gojenia. W dalszej części Autorka zawarła szczegółowe zalecenia do stosowania elektrostymulacji wysokonapięciowej w leczeniu odleżyn u ludzi, wskazując parametry stosowane w badaniu własnym i innych autorów. W tym miejscu można było także powołać się na rekomendacje kliniczne, np. Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran z 2020 roku. Na zakończenie tej części dyskusji znajduje się podsumowanie Autorki, że wprowadzenie wyników prowadzonych badań przedklinicznych wskazują na różne działanie katody i anody w procesach leżących u podstawy gojenia się ran, ale zdaniem autorów systematycznych przeglądów z 2014 i 2017 r. decyzje kliniczne mogą podejmować lekarze i fizjoterapeuci indywidualnie uwzględniając fazę i postępy gojenia rany.

W ostatnim podrozdziale Autorka podjęła się opisu mocnych stron badań, ale przede wszystkim, samokrytycznie - co należy docenić - ograniczeń w badaniach własnych. W mocnych stronach zwróciła uwagę na wstępne oszacowanie liczebności w grupach, losowy przydział do grup, uwzględnienie grupy kontrolnej- w której zabiegi symulowano, zaślepienie, prowadzenie badań w jednej placówce. Wśród ograniczeń zwróciła uwagę na małą liczebność osób u których uzyskano drugorzędne wyniki badania, prowadzenie leczenia tylko przez 4 tygodnie- a nie do całkowitego wygojenia rany, zróżnicowane leczenie podstawowe oraz brak oceny długoterminowych efektów terapii.

Wnioski wypływające z analizy uzyskanych wyników przedstawione zostały w postaci 5 wniosków szczegółowych i wniosku aplikacyjnego. Autorka wykazała, że: anodowa i katodowa elektrostymulacja prowadzona przez 4 tygodnie (20 zabiegów) w podobnym stopniu przyczynia się do zmniejszenia pola powierzchni odleżyn II – IV stopnia u osób z uszkodzeniem OUN. Istotną poprawę stwierdzano już po drugim tygodniu stosowania terapii, która utrzymywała się do 4 tygodnia; katodowa i anodowa EWN prowadzona przez 2 i 4

tygodnie nie wpływają na ekspresję genów MMP-1, MMP-2 i MMP-9; anodowa EWN nie wpływa na ekspresję genów TGF- β 1, TGF- β 2 i TGF- β 3, a katodowa EWN nie wpływa na ekspresję genów TGF- β 1 i TGF- β 2, zwiększa natomiast ekspresję TGF- β 3, która jest większa po 2 tygodniach terapii w porównaniu do EWN anodowej; nie występują silne i istotne korelacje pomiędzy ekspresją genów MMP-1, MMP-2 i MMP-9 oraz TGF- β 1, TGF- β 2 i TGF- β 3, a zmianami pola powierzchni leczonych odleżyn.

We wniosku aplikacyjnym Doktorantka podała, że w celu zmniejszenia pola powierzchni odleżyn II-IV stopnia u osób z uszkodzeniami OUN oraz zwiększenia ekspresji genów TGF- β 3 w obszarze odleżyn można przez 4 tygodnie (1x dziennie przez 50 min, 5 dni w tygodniu) stosować anodową lub katodową EWN i wskazała szczegółową metodykę stosowaną w prezentowanych badaniach. Jednocześnie zaznaczyła, że rekomendacja ta wynika zarówno z badania własnego, jak i wyników innych randomizowanych badań.

Wnioski są interesujące, odpowiadają na cele pracy i posiadają wartość poznawczą i praktyczną. Jednak można je było przedstawić w krótszej formie, co i tak będzie konieczne podczas przygotowywania pracy do druku.

Piśmiennictwo przedstawione zostało w kolejności cytowań, obejmuje 253 pozycji dobrze dobrane i wykorzystane w pracy z uwzględnieniem pozycji z ostatnich lat.

Uwagi Piśmiennictwo zostało poprawnie dobrane i zredagowane.

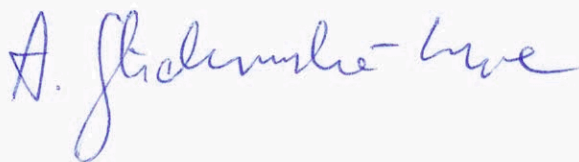
Praca napisana została poprawnie pod **względem formalno-językowym**. Znalezione jedynie drobne uchybienia, które w żaden sposób nie wpływają na wartość pracy: np. str. 12 wers 6 od góry jest „przez czynników wzrostu”, powinno być „przez czynniki wzrostu”; str. 35, 1 wers od góry znajduje się niedokończone zdanie „Zabiegi EWN przeprowadzano elektrodami wykonanymi” i następnie „Dla każdego pacjenta..”, str. 70 tytuł podrozdziału 5.4. jest „Moce strony...”, powinno być „Mocne strony...”.

Opinia końcowa W podsumowaniu stwierdzam, że **rozprawa doktorska mgr Bogny Szoltys-Brzezowskiej, nt.: „Zmiany pola powierzchni odleżyn oraz ekspresja genów wybranych metaloproteinaz i transformującego czynnika wzrostu w odleżynach u ludzi po zastosowaniu elektrostymulacji wysokonapięciowej”**, została napisana poprawnie pod względem merytorycznym i formalnym. **Rozprawę oceniam pozytywnie**. Zawiera oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a uzyskane wyniki stanowią wartościowy dorobek naukowy o znaczeniu poznawczym i aplikacyjnym. Rozprawa potwierdza umiejętność Autorki do

samodzielnego prowadzenia badań naukowych i mieści się w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o kulturze fizycznej.

W mojej opinii rozprawa spełnia wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o kulturze fizycznej odpowiadając wymaganiom określonym w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy z dn. 20 lipca 2018 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2023, poz.742 z późn.zm.). Dlatego wnoszę do Senatu Akademii Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach o dopuszczenie **mgr Bogny Szoltys-Brzezowskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań 16.08.2024

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'A. Szoltys-Brzezowska', written in a cursive style.