



UNIwersytet  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU  
Wydział Farmaceutyczny  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Uniwersytet Medyczny  
we Wrocławiu



RPW/16838/2024 P  
Data: 2024-09-19

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
BIURO RADY DYSCYPLINY  
NAUKI MEDYCZNE

wpt.  
dnia 19-09-2024

L. dz. RN-BM/

1253

prof. dr hab. n. med. Barbara Zegarska

Bydgoszcz 05.09. 2024

Katedra Kosmetologii i Dermatologii Estetycznej

CM w Bydgoszczy, UMK w Toruniu

85-067 Bydgoszcz, ul. Jagiellońska 13-15

e-mail: [bzegarska@cm.umk.pl](mailto:bzegarska@cm.umk.pl)

tel. (52) 5853424

## RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ LEK. MED. KATARZYNY KREFFT-TRZCINIECKIEJ „WPLYW LECZENIA AUTOLOGICZNYMI KOMÓRKAMI MACIERZYSTYMI NA WYBRANE ASPEKTY KLINICZNE I PSYCHOSPOŁECZNE U PACJENTEK Z ŁYSIENIEM ANDROGENOWYM”

Łysienie androgenowe (ang. androgenetic alopecia, AGA) jest najczęściej występującą formą łysienia niebliznowaciejącego zarówno u mężczyzn jak i kobiet, która objawia się postępującą utratą włosów o bardzo charakterystycznym i przewidywalnym wzorcu. AGA jest chorobą dynamiczną i postępującą, dlatego po wstępnej diagnozie ważne jest, aby szybko zastosować nie tylko leczenie hamujące postęp choroby, ale również odwracające zmiany, które już wystąpiły.

Częstość występowania AGA wzrasta wraz z wiekiem i około 70 roku życia 42% kobiet i 80% mężczyzn wykazuje charakterystyczne jej cechy. Łysienie androgenowe jest zaburzeniem wypadania włosów, w którym pośredniczy dihydrotestosteron poprzez indukowanie miniaturyzacji mieszków włosowych i przekształcanie końcowych włosów we włosy welusowe. W etiopatogenezie tego stanu dużą rolę przypisuje się także stresowi oksydacyjnemu i mikrozapaleniu wokół mieszków włosowych skóry objętej procesem chorobowym.

Aktualnie w leczeniu łysienia androgenowego substancjami zatwierdzonymi przez FDA są minoksydyl stosowany miejscowo (u mężczyzn i u kobiet) oraz finasteryd stosowany doustnie (tylko u mężczyzn). Dostępne terapie AGA często nie przynoszą zadowalających efektów klinicznych dlatego istnieje zapotrzebowanie na nowe strategie leczenia. Terapie oparte na komórkach macierzystych w ostatnim czasie spotkały się ze znacznym zainteresowaniem jako potencjalne nowe metody leczenia polegające na reaktywacji komórek macierzystych mieszków włosowych, a tym samym poprawiające wzrost, regenerację i rozwój mieszków włosowych i włosów.

Podjęty temat badania jest nowatorski w kontekście możliwego wykorzystania tej metody leczenia w praktyce klinicznej, dlatego też uważam, że problem badawczy podjęty przez Doktorantkę jest zatem bardzo istotny. Jego zwieńczeniem jest praca doktorska pt. **Wpływ leczenia**

**autologicznymi komórkami macierzystymi na wybrane aspekty kliniczne i psychospołeczne u pacjentek z łysieniem androgenowym” pod kierunkiem promotora dr hab. n.med. Danuty Nowickiej .**

Rozprawa doktorska lek. med. lek. med. Katarzyny Krefft-Trzcynieckiej ma charakter cyklu trzech publikacji o łącznym współczynniku *summaryczny IF: 13,5 a summaryczna punktacja MW wynosi 280.*

1. **Krefft-Trzcieniecka Katarzyna**, Piętowska Zuzanna, Nowicka Danuta, Szepietowski Jacek C.: Human stem cell use in androgenetic alopecia: a systematic review, *Cells*, 2023, vol. 12, nr 6, art.951 [12 s.], DOI:10.3390/cells12060951.

**Punktacja:**

**IF: 6,**

**MNiSW: 140**

2. **Krefft-Trzcieniecka Katarzyna**, Piętowska Zuzanna, Pakiet Alicja, Nowicka Danuta, Szepietowski Jacek C.: Short-term clinical assessment of treating female androgenetic alopecia with autologous stem cells derived from human hair follicles, *Biomedicines*, 2024, vol. 12, nr 1, art.153 [12 s.], DOI:10.3390/biomedicines12010153.

**Punktacja:**

**IF: 4,7,**

**MNiSW: 100**

3. **Krefft-Trzcieniecka Katarzyna**, Cisoń Hanna, Pakiet Alicja, Nowicka Danuta, Szepietowski Jacek C.: Enhancing quality of life and sexual functioning in female androgenetic alopecia: therapeutic potential of hair follicle-derived stem cells, *Healthcare*, 2024, vol. 12, nr 6, art.608 [11 s.], DOI:10.3390/healthcare12060608.

**Punktacja:**

**IF: 2,8,**

**MNiSW: 40**

Prace zostały opublikowane w latach 2023-2024. W każdej z nich Doktorantka jest pierwszym autorem co świadczy o wiodącym wkładzie doktorantki w powstanie prac i dodatkowo podnosi wartość tej rozprawy. Prace te opisują oryginalne wyniki badań, interpretację ich oraz dyskusję uzyskanych wyników badań i ukazały się w renomowanych czasopismach takich jak: *Cells*, *Biomedicines* i *Healthcare*.

Przedstawiona do oceny praca cechuje się starannością edytorską i ma typowy układ dla rozpraw doktorskich. Składa się ze wstępu, celu pracy, wykazu publikacji wchodzących w skład rozprawy, materiału i metodyki badań, omówienia publikacji będących przedmiotem rozprawy i wniosków, etyki, bibliografii, streszczenia w języku polskim i angielskim. Dodatkowo

Doktorantka dołączyła: opinię Komisji Bioetycznej, CV, dorobek naukowy i oświadczenia współautorów.

### **Celem rozprawy doktorskiej był:**

Celem badań wchodzących w skład rozprawy doktorskiej był przegląd aktualnie dostępnych badań oceniających skuteczność terapii opartych na ludzkich komórkach macierzystych w leczeniu łysienia androgenowego, przeprowadzenie badania z autologicznymi komórkami macierzystymi pochodzącymi z mieszków włosowych w grupie kobiet chorujących na AGA jak i ocena skuteczności zastosowanej terapii. Dodatkowo autorka oceniała i scharakteryzowała obciążenie psychospołeczne związane z tą chorobą, a także wpływ leczenia komórkami macierzystymi na jakość życia oraz funkcjonowanie seksualne wśród zakwalifikowanych do badania pacjentek.

Cele szczegółowe:

1. Dokonanie przeglądu systematycznego piśmiennictwa dotyczącego efektywności oraz bezpieczeństwa stosowania ludzkich komórek macierzystych różnego pochodzenia w leczeniu łysienia androgenowego.
2. Ocena skuteczności leczenia komórkami macierzystymi pochodzącymi z mieszków włosowych (HFSCs) w grupie pacjentek z łysieniem androgenowym.
3. Ocena obecności i stopnia nasilenia obciążenia psychospołecznego w grupie badanych pacjentek z łysieniem androgenowym przez leczeniem.
4. Ocena wpływu terapii autologicznymi komórkami macierzystymi na jakość życia i funkcjonowanie seksualne w grupie badanych pacjentek z łysieniem androgenowym.
5. Analiza korelacji pomiędzy wskaźnikami laboratoryjnymi i skutecznością terapii z wykorzystaniem komórek macierzystych w grupie badanych pacjentek z łysieniem androgenowym.

### **Omówienie cyklu prac**

Pierwsza praca jest przeglądem piśmiennictwa i dotyczy wykorzystania ludzkich komórek macierzystych różnego pochodzenia w leczeniu łysienia androgenowego. Doktorantka przeglądu dokonała zgodnie z wytycznymi protokołu PRISMA w marcu 2023 r. Bazy danych Medline, Web of Science oraz Scopus przy użyciu kombinacji słów kluczowych: „łysienie androgenowe” (ang. androgenic alopecia) lub „łysienie wzorcowe” (ang. pattern hair loss) oraz „komórki macierzyste” (ang. stem cells) lub „ADSC” (ang. adipose tissue-derived stem cells) lub „ASC” (ang. adipose-derived stromal stem cells) lub „FDSC” (ang. fascia-derived stem cells) lub „HFCS” (ang. hair follicle-derived stem cells) lub „MSC” (ang. mesenchymal stem cells). Kryteria wykluczenia obejmowały modele przedkliniczne (badania na zwierzętach), badania in vitro, przeglądy narracyjne, przypadki hipotetyczne i badania obserwacyjne, a także artykuły w języku innym niż angielski. W przypadku badań z tych samych ośrodków zgłaszających prawdopodobnie nakładające się kohorty uwzględniono najnowsze badanie. Do dalszej analizy włączono oryginalne artykuły pełnotekstowe dotyczące zastosowania komórek macierzystych w leczeniu łysienia androgenowego.

W badaniach będących podstawą drugiej i trzeciej publikacji cyklu badano wpływ leczenia za pomocą autologicznych mikroprzeszczepów komórek macierzystych (autologous cellular

micrografts, ACM) pochodzących z mieszków włosowych u pacjentek z rozpoznaniem łysieniem androgenowym. Badania prowadzono w latach 2022-2023. Zakwalifikowano do niego pacjentki powyżej 18 roku życia, które podpisały świadomą zgodę na udział w badaniu. Podstawowe kryteria wyłączenia obejmowały: immunosupresję, choroby nowotworowe, ciężkie choroby przewlekłe, ciążę, karmienie piersią, wiek poniżej 18 lat, stosowanie antykoncepcji hormonalnej, hiperprolaktynemię, niedoczynność tarczycy, dodatnie przeciwciała przeciwjądrowe 3 (ang. antinuclear antibodies, ANA3), aktywne zapalenie skóry głowy, zaburzenia krzepnięcia, alergię na lignokainę i niestabilny stan emocjonalny. Wykluczono także pacjentki, które w ciągu sześciu miesięcy przed rozpoczęciem projektu otrzymywały leczenie AGA w postaci doustnej (finasteryd, dutasteryd, minoksydyl, antyandrogeny) lub miejscowej (minoksydyl, analogi prostaglandyn, kortykosteroidy). Ostatecznie do badania zakwalifikowano 23 pacjentki z łysieniem androgenowym, których średni wiek wynosił  $40,1 \pm 12$  lat. Od wszystkich pacjentek zostały pobrane próbki krwi celem wykonania badań laboratoryjnych. Parametry biochemiczne analizowano w następujący sposób: testy elektrochemiluminescencji na obecność hormonu tyreotropowego (TSH), przeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycowej (anty-TPO), przeciwciał przeciwko tyreoglobulinie (anty-TG), testosteronu, globuliny wiążącej hormony płciowe (SHGB), prolaktyny i kortyzolu; testy kolorymetryczne na obecność żelaza analizowano za pomocą cobas® e 411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Niemcy). Testy chemiluminescencji dla androstendionu, witaminy D3, kwasu foliowego, ferrytyny i witaminy B12 przeprowadzono na LIAISON® XL (DiaSorin, Saluggia, Włochy). Diagnostyczne zestawy laboratoryjne firmy EUROIMMUN (Wrocław, Polska) zostały użyte do enzymatycznych testów immunosorbencyjnych na siarczan dehydroepiandrosteronu (DHEA-S), dihydrotestosteron (DHT),  $17\alpha$ -hydroksyprogesteronu, adrenokortykotropiny (ACTH) oraz do immunoblottingu przeciwciał przeciwjądrowych (ANA), które analizowano na EUROBlot One (EUROIMMUN, Wrocław, Polska). Badania hematologiczne wykonano na aparacie Sysmex XN-1000 (Sysmex, Norderstedt, Niemcy).

Pacjentkom zakwalifikowanym do badania, z okolicy zausznej owłosionej skóry głowy, pobierano pięć wycinków skórnych przy pomocy sztancy o średnicy 2,5 mm. Z pobranych mikroprzeszczepów za pomocą Rigeneracons® otrzymano zawiesinę komórek, którą metodą mezoterapii zaaplikowano w skórę głowy objętą procesem chorobowym. Regenera Activa® (Human Brain Wave SRL, Turyn, Włochy) to technologia wykorzystująca urządzenie Regenera Activa®, które jest systemem do mechanicznej dezintegracji i filtrowania tkanek stałych w celu ekstrakcji komórek macierzystych. Procedura jest przeprowadzana przy użyciu metody Rigenera HBW (Regenera® Protocol, Rigenera® Activa, Human Brain Wave SRL, Turyn, Włochy), opracowanej we Włoszech w 2013 roku i dostępnej w ponad 50 krajach. Protokół obejmuje użycie kilku urządzeń: Regenera Activa® do pobierania biopsji punkcyjnych, Rigeneracons (Human Brain Wave SRL, Turyn, Włochy) do wytwarzania zawiesiny komórek stosowanej jako ACM oraz standardowej strzykawki do wstrzykiwania ACM w obszar docelowe.

W celu oceny efektów leczenia, wykonywano zdjęcia głowy pacjentek przed leczeniem i sześć miesięcy po jego zakończeniu. Fotografie przed i po zabiegu zostały wykonane w tym samym pomieszczeniu, w podobnych warunkach oświetleniowych i w tej samej pozycji głowy. Czterech specjalistów dermatologii niezależnie oceniło zdjęcia przed i po leczeniu przy użyciu wizualnej skali analogowej (ang. visual analog scale, VAS). Dodatkowo za pomocą skali Ludwiga Doktorantka oceniła stopień zaawansowania choroby w badanej grupie przed i po zakończeniu leczenia.

Wszystkie zakwalifikowane do badania pacjentki zostały poproszone o wypełnienie dwóch kwestionariuszy przed i sześć miesięcy po wykonanej procedurze z komórkami macierzystymi. Wykorzystano kwestionariusz jakości życia w wersji skróconej Światowej Organizacji Zdrowia (ang. The World Health Organization Quality of Life Brief Version, WHOQOL-BREF) do oceny jakości życia w czterech domenach: zdrowie fizyczne, zdrowie psychiczne, relacje społeczne i środowisko. Każda domena była oceniana w skali Likerta od 1 do 5. Po zebraniu wypełnionych kwestionariuszy wyniki domen zostały przekształcone w skalę od 0 do 100, gdzie wyższe wyniki wskazywały na wyższą jakość życia. Drugim wykorzystanym kwestionariuszem był Indeks Funkcjonowania Seksualnego Kobiet (ang. Female Sexual Function Index, FSFI) czyli 19-elementowa skala badająca sześć różnych obszarów kobiecych funkcji seksualnych, a mianowicie: pożądanie, podniecenie, nawilżenie, orgazm, satysfakcje i ból.

Następnie zbadano korelację pomiędzy zmianą wyniku VAS po leczeniu a wyjściową charakterystyką kliniczną pacjentów i korelacje między funkcjonowaniem seksualnym a jakością życia kobiet z AGA po leczeniu.

Do analizy statystycznej wykorzystano oprogramowanie SigmaPlot 14.5 (Systat, Software Inc., San Jose, CA, USA). Dane o rozkładzie normalnym przedstawiono jako średnia  $\pm$  odchylenie standardowe (SD), dane niespełniające założenia o normalności przedstawiono jako medianę (rozstęp międzykwartylowy). W testach statystycznych  $p < 0,05$  uznano za istotne statystycznie.

## **Wnioski**

Na podstawie przeprowadzonych w niniejszej rozprawie doktorskiej badań, Doktorantka sformułowała sześć wniosków, które w pełni odpowiadają założonym celom pracy.

1. Zastosowanie ludzkich komórek macierzystych w łysieniu androgenowym wydaje się obiecującą opcją terapeutyczną wobec standardowego leczenia lub może odgrywać rolę terapii uzupełniającej w celu poprawy efektu leczenia podstawowego.
2. Leczenie ludzkimi komórkami macierzystymi niezależnie od ich pochodzenia ma pozytywny wpływ na gęstość włosów u pacjentów chorujących na łysienie androgenowe.
3. Terapia wykorzystująca autologiczne komórki macierzyste z mieszków włosowych przynosi satysfakcjonujące efekty sześć miesięcy po pojedynczej sesji leczenia u kobiet z łysieniem androgenowym.
4. Pacjentki, u których stwierdzono w pobranych próbkach krwi wyższe wyjściowe stężenie globuliny wiążącej hormony płciowe (SHBG) i  $17\alpha$ -hydroksyprogesteronu osiągały lepsze wyniki kliniczne oceniane za pomocą skali VAS.
5. Łysienie androgenowe żeńskie wpływa negatywnie na jakość życia i funkcjonowanie seksualne kobiet, a wykorzystanie terapii z komórkami macierzystymi w leczeniu kobiet z AGA działa pozytywnie na oba aspekty.
6. Konieczne są dalsze badania w celu oceny długoterminowej skuteczności stosowania autologicznych komórek macierzystych pochodzących z mieszków włosowych pacjentów chorujących na łysienie androgenowe.

## **Podsumowanie i wniosek końcowy**

W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o przyjęcie pozytywnie ocenionej pracy jako rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i dopuszczenie lek. med. Katarzyny Krefft-Trzcinieckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

**Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. Art.187 ust.1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 - Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (t. j. Dz. U. z 2018 r. poz. 1668).**

**Ze względu na szczególną wartość merytoryczną pod względem naukowo-poznawczym, społecznym a zwłaszcza klinicznym i praktycznym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z wnioskiem o jej wyróżnienie.**

### **Uzasadnienie wyróżnienia**

Za szczególne zalety ocenianej pracy doktorskiej uznaję:

1. Wybranie ciekawego i niezwykle istotnego tematu pracy doktorskiej mającego duże znaczenie zarówno naukowo-badawcze, praktyczne, kliniczne a także społeczne.
2. Autorka wykazała się bardzo dużą rzetelnością i pracowitością.
3. Badania dotyczące nowych metod terapeutycznych AGA z zastosowaniem komórek macierzystych mogą być pomocne w leczeniu tego schorzenia.
4. Mam nadzieję, że jest to dopiero początek kariery naukowej Doktorantki a dalsze badania w tym niezwykle ciekawym temacie w przyszłości będą pomocne w codziennej praktyce klinicznej.

prof. dr hab. n. med. Barbara Zegarska

