



UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

AUTOREFERAT
OPIS OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Dr n. med. Piotr Barć

Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej

Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Wrocław 2022

1. Imię i nazwisko:

Piotr Barć

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

1990 **dyplom lekarza** Akademia Medyczna we Wrocławiu Wydziału Lekarskiego

1997 **dyplom specjalisty w dziedzinie chirurgii ogólnej**

2000 **dyplom doktora nauk medycznych, Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego**

Tytuł rozprawy doktorskiej:

Losy chorych po wszczepieniu protezy naczyniowej aortalnodwuudowej

Promotor:

prof. dr hab. Andrzej T. Dorobisz

2003 **dyplom specjalisty w dziedzinie chirurgii naczyniowej**

2004 **dyplom specjalisty w dziedzinie transplantologii klinicznej**

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

Staż podyplomowy:

1990-1991 Zespół Opieki Zdrowotnej Śródmieście we Wrocławiu

Studia podyplomowe:

1999-2001 W zakresie orzecznictwa w Akademii Medycznej we Wrocławiu

Zatrudnienie:

1991-1993 asystent, Zespół Opieki Zdrowotnej Śródmieście we Wrocławiu

1991-1993 asystent, Oddział Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej Wojewódzki
Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu

1993-1996 asystent, III Katedra i Klinika Chirurgii Akademii Medycznej
we Wrocławiu

1996-2000 asystent, Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej Akademii
Medycznej we Wrocławiu

2000-2012 adiunkt, Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej Akademii
Medycznej we Wrocławiu

2012-2022 asystent Uniwersytecki Szpital Kliniczny we Wrocławiu

2019-2021 adiunkt w Katedrze i Klinice Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej
i Transplantacyjnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

4. Wskazanie osiągnięcia¹ naukowego lub artystycznego, o którym mowa w art. 219 ust. 1. Pkt 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz.U. 2018 poz. 1668).

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

INDUKCJA ANGIOGENEZY W LECZENIU KRYTYCZNEGO NIEDOKRWIENIA KOŃCZYNY DOLNEJ – TERAPIA GENOWA

4.2. Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy:

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl **5 publikacji** o łącznym **IF: 15,738; MNISW/KBN: 280.**

Wykaz publikacji będących podstawą do sformułowania wniosku o nadanie tytułu doktora habilitowanego w dziedzinie medycyny:

1. Jan Paweł Skóra, Maciej Antkiewicz, Diana Kupczyńska, Katarzyna Kulikowska, Bartłomiej Strzelec, Dariusz Janczak, **Piotr Barć**: *Local intramuscular administration of ANG1 and VEGF genes using plasmid vectors mobilizes CD34+ cells to peripheral tissues and promotes angiogenesis in an animal model.*

Biomed.Pharmacother. 2021 Vol. 143 art. 112186 [5 s.]

IF: 6,529

Pkt. MNiSW/KBN: 100,00

¹ oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie publikacji zawarto w osobnym załączniku.

2. **Piotr Barć, Maciej Antkiewicz, Barbara Śliwa, Katarzyna Frączkowska, Maciej Guziński, Tomasz Dawiskiba, Małgorzata Małodobra-Mazur, Wojciech Witkiewicz, Diana Kupczyńska, Bartłomiej Strzelec, Dariusz Janczak, Jan Paweł Skóra: *Double VEGF/HGF gene therapy in critical limb ischemia complicated by diabetes mellitus.***
J.Cardiovasc.Transl.Res. 2021 Vol. 14 no. 3 s. 409-415
IF: 4,132
Pkt. MNiSW/KBN: 70,00
3. **Piotr Barć, Maciej Antkiewicz, Barbara Śliwa, Dagmara Baczyńska, Wojciech Witkiewicz, Jan Paweł Skóra: *Treatment of critical limb ischemia by pIRES/VEGF165/HGF administration.***
Ann.Vasc.Surg. 2019 Vol.60, s. 346-354
IF: 1,125
Pkt. MNiSW/KBN: 70,00
4. **Piotr Barć, Tomasz Płonek, Dagmara Baczyńska, Agata Radwańska, Wojciech Witkiewicz, Agnieszka Hałoń, Diana Kupczyńska-Markiewicz, Łukasz Stróżecki, Krzysztof Korta, Jan Skóra: *A combination of VEGF165/HGF genes is more effective in blood vessels formation than ANGPT1/VEGF165 genes in an in vivo rat model.***
Int.J.Clin.Exp.Med. 2016 Vol. 9 no. 7 s. 12737-12744
IF: 1,069
Pkt. MNiSW/KBN: 15,00

5. Dagmara Baczyńska, Dagmara Michałowska, **Piotr Barć**, Jan Skóra, M. Karczewski, A. Sadakierska-Chudy: *The expression profile of angiogenic genes in critical limb ischemia popliteal arteries*, J.Physiol.Pharmacol. 2016 Vol. 67 no. 3, s. 353-362.

IF: 2,883

Pkt. MNiSW/KBN: 25,00

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Celem badań przedstawionym w cyklu publikacji było poszerzenie możliwości leczenia krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych poprzez wpływ na powstawanie nowych naczyń w niedokrwionej tkance.

Wspólnym tematem przedstawionego cyklu prac są procesy angiogenezy, arteriogenezy i waskulogenezy zachodzące w niedokrwionych tkankach oraz nasze możliwości wpływu na nie za pomocą terapii genowej za pomocą plazmidów z genami kodującymi czynniki wzrostu, a także podaży komórek macierzystych uzyskanych ze szpiku własnego.

Omówione zostaną następujące cele naukowe:

1. Aktywność czynników proangiogennych (ekspresja genów czynników wzrostu) w niedokrwionych tkankach (publikacja nr 5) oraz badanie możliwości stymulacji angiogenezy w modelu zwierzęcym za pomocą plazmidów genów kodujących czynniki wzrostu (publikacja nr 1, 4).
2. Próby terapii genowej krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych (użycie plazmidów genów czynników wzrostu) (publikacja nr 2, 3).

Ad. 1

Aktywność czynników proangiogennych (ekspresja genów czynników wzrostu) w niedokrwionych tkankach (publikacja nr 5) oraz badanie możliwości stymulacji angiogenezy w modelu zwierzęcym za pomocą plazmidów genów kodujących czynniki wzrostu (publikacja nr 1, 4).

Zjawisko angiogenezy zostało opisane po raz pierwszy w 1787 roku przez Johna Huntera, który opisywał wzrost naczyń krwionośnych w porożu reniferów. Pierwsze obserwacje „dzielących się” naczyń u larw płazów obserwował Elliot Clark w 1918. Dokładne badania angiogenezy oraz limfangiogenezy przeprowadziła Florence Sabin w latach 1902-1920. Mechanizm tworzenia naczyń krwionośnych składa się z 3 etapów: waskulogenezy, angiogenezy, arteriogenezy. Wspólnie te 3 etapy występują tylko w życiu płodowym. Po narodzeniu oraz u osobnika dorosłego dochodzi do fizjologicznej waskulogenezy i angiogenezy w trakcie gojenia ran. Do niedawna uważano, że brak jest arteriogenezy. Efektem waskulogenezy jest wytworzenie naczyń włosowatych - kapilary (6 μm). Natomiast dzięki angiogenezie powstają naczynia - arteriole (30 μm). W 1971 r. dr Judah Folkman zasugerował, iż wzrost nowotworów jest zależny od tworzenia naczyń krwionośnych. Proces angiogenezy jest modulowany przez wiele czynników, szczególnie istotną rolę przypisuje się czynnikom proangiogennym, takim jak odkryty w 1983 przez dr. Harolda Dvorka podczas badań nad nowotworami naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF - *vascular endothelial growth factor*). Proces angiogenezy jest wieloetapowy i rozpoczyna się od pobudzenia komórek śródbłonka i wazodylatacji naczyń. Na tym etapie

kluczową rolę odgrywa VEGF. Kolejnym procesem jest destabilizacja naczyń i degradacja błony podstawnej. Następnie dochodzi do proliferacji, migracji i adhezji komórek endotelialnych w przestrzeni okołonaczyniowej. Za proliferację komórek opowiadają: VEGF i angiopoetyny (ANG). Ostatnim etapem jest tworzenie i stabilizacja nowego naczynia.

Czynniki angiogenne stanowią przedmiot zainteresowania ze względu na możliwość wpływu na proces nowo powstawania naczyń w niedokrwionych tkankach. Pierwsze badania prowadziłem w celu ustalenia obecności ekspresji genów czynników wzrostu w niedokrwionych tkankach (komórki śródbłonna tętnicy podkolanowej uzyskane od chorych poddanych amputacjom naczyniowym). Wykazałem aktywację procesu angiogenezy wywołaną niedokrwieniem, stymulację genów kodujących VEGF i ANG.

Następnym etapem były badania na modelu zwierzęcym (szczur). Preparat zawierający plazmidy z genem kodującym czynniki proangiogenne podawano domięśniowo. Po miesiącu zwierzęta sekcjonowano. Fragmenty mięśni do których podano preparat i odpowiednich mięśni nie poddanych iniekcjom u tych samych zwierząt i w grupach kontrolnych pobierano w czasie sekcji i oceniano proces powstawania nowych naczyń wykorzystując techniki immunohistochemiczne. Proces waskulogenezy i angiogenezy był oceniany ilościowo na podstawie nowo wytworzonych naczyń oraz stężenia w tkance czynników proangiogennych. Pobierano także narządy



wewnętrzne zwierząt celem ich badania histologicznego (serce, płuca, wątroba, nerki).

W pierwszych pracach doświadczalnych na modelu zwierzęcym oceniałem wpływ plazmidu VEGF. Na podstawie uzyskanych wyników wykazałem, że nagi plazmid VEGF promuje tylko lokalną waskulogenezę i powstawanie sieci naczyń włosowatych w mikrokrażeniu w miejscu podania genu. Nie ma natomiast uchwytne go działania ogólnoustrojowego. W badanym materiale doświadczalnym nie obserwowałem żadnych wyników niepożądanych w postaci uogólnionej angiogenezy i onkogenezy.

Następnie wykonałem dalsze serie badań z użyciem podawanych domięśniowo dwóch różnych plazmidów zawierających geny kodujące czynniki wzrostu (VEGF, ANG). Celem tych badań doświadczalnych była ocena tworzenia naczyń krwionośnych z istniejących kapilar. Wyniki przeprowadzone badania z wykorzystaniem dwóch plazmidów kodujących VEGF i ANG były pozytywne. W badaniu immunohistologicznym wykazałem obecność waskulogenezy w postaci przyrostu naczyń włosowatych ale także wzrost liczby naczyń krwionośnych co oznaczało aktywność procesu angiogenezy. Wykazanie zjawiska angiogenezy po zastosowaniu dwóch plazmidów były przesłanką do prowadzenia dalszych badań nad wykorzystaniem innych plazmidów.

W kolejnych badaniach wprowadziłem plazmid kodujący cytokinę silnie mitogenną gen HGF. Wykazałem, że zastosowanie plazmidu HGF zdecydowanie zwiększa intensywność zjawiska angiogenezy

zachodzącego po podaniu plazmidu VEGF. Uzyskane wyniki były podstawą do wprowadzenia plazmidów bicistronowych (dwugenowych), które umożliwiają kodowanie dwóch genów cytokin w jednym plazmidzie - użyto konstruktyw VEGF-ANG i VEGF-HGF). Stwierdziłem, że najlepsze wyniki uzyskuje się w po zastosowaniu bicistronowego plazmidu kodującego VEGF i HGF.

W kolejnym badaniu doświadczalnym zastosowałem dwuetapową transfekcję plazmidami. W pierwszym etapie stosowano bicistronowy plasmid kodujący geny VEGF i HGF a następnie po 3 tygodniach i plazmid kodujący ANG.

Uzyskane wyniki zwróciły uwagę nad problemem wpływu proangiogenych plazmidów na komórki CD34 które stanowią źródło dla komórek progenitorowych śródbłónka naczyń. W badaniu doświadczalnym wykazano, że najskuteczniejszym plazmidem w aktywacji migracji komórek CD 34 jest plazmid bicistronowy VEGF /HGF.

Do chwili obecnej wykonano także badania z użyciem peptydów transportowych K4 (materiał w opracowaniu danych).

W każdej z przeprowadzonych serii eksperymentów występowała grupa kontrolna. Opisane serie badań były przeprowadzane z pewnym odstępem czasowym, co było wymuszone przez wprowadzanie nowych plazmidów.

Ponadto ustaliłem, że u żadnego z badanych zwierząt nie wystąpiły uchwytnie patologie, a podanie plazmidów nie pogarsza ich stanu.

W badaniach sekcyjnych nie stwierdzono patologii w narządach wewnętrznych zarówno makroskopowo, jak i w badaniu histopatologicznym. Ostatecznie stwierdziłem, że angiogenezę najskuteczniej aktywował plazmid bicistronowy VEGF-HGF.

Ad. 2

Próby terapii genowej krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych (użycie plazmidów genów czynników wzrostu) (publikacja nr 2, 3).

W 1998 roku J. Isner opisał możliwości wykorzystania terapeutycznej angiogenezy do regeneracji tętnic w skrajnym niedokrwieniu mięśnia sercowego i kończyn dolnych.

Krytyczne niedokrwienie kończyn dolnych jest jednym z głównych problemów współczesnej chirurgii naczyniowej. Określamy nim stan, gdy niedokrwienie kończyny doprowadzi do jej amputacji, jeśli nie podejmiemy leczenia. Tylko około 1/3 pacjentów prezentujących ten stan może być skutecznie leczona chirurgicznie (przy pomocy wewnątrznacyniowych czy otwartych zabiegów chirurgicznych). Pozostali, nie kwalifikujący się do leczenia chirurgicznego stanowią grupę, której dedykowałem badania. Stymulacja zachodzącej w niedokrwionych tkankach angiogenezy może doprowadzić do poprawy krążenia wystarczającej do utrzymania kończyny.

W oparciu o własne badania doświadczalne (opisane powyżej) i dane z piśmiennictwa rozpocząłem stosowanie proangiogenych plazmidów w leczeniu krytycznego niedokrwienia kończy dolnych. Wszystkie zastosowane plazmidy do terapeutycznej angiogenezy były testowane na

modelu zwierzęcym. Chorzy byli informowani dokładnie o terapii eksperymentalnej i wszyscy wyrazili świadomą zgodę na leczenie. Uzyskano zgodę komisji bioetyki.

W pierwszych pracach klinicznych potwierdziłem pozytywny wpływ podania VEGF na rozwój mikrokrażenia w tkankach niedokrwionych kończy dolnych. Nie obserwowano patologicznej angiogenezy w zakresie siatkówki oka i występowania w grupie leczonej nowotworów. Pozytywne miejscowe efekty terapii genowej plazmidem VEGF w krytycznym niedokrwieniu kończy dolnych były przesłanką do dalszych moich badań.

Następnie przeprowadzono badania z użyciem plazmidu bicistronowego VEGF/HGF, a także plazmidu ANG. Wybrano je ze względu na rezultaty uzyskane w pracach na modelu zwierzęcym.

Ustaliłem następujące kryteria wyłączone: choroba nowotworowa, AMD (związane z wiekiem zwyrodnienie plamki żółtej), a także możliwość skutecznego leczenia chirurgicznego, szacowany okres przeżycia poniżej roku i brak współpracy pacjenta. Nie kwalifikowałem także pacjentów z bardzo zaawansowanymi zmianami martwiczymi dającymi pewność utraty kończyny; byli oni kierowani do pierwotnych zabiegów amputacyjnych.

Celem oceny skuteczności terapii monitorowano stan ogólny chorych, stan kończyny: wielkość i ewentualne gojenie się owrzodzenia, rozległość zmian martwiczych, możliwość wykonania amputacji oszczędzającej/konieczność przeprowadzenia dużej amputacji, pomiar współczynnika ramię-kostka, ocenę ultrasonograficzną naczyń krążenia

obocznego, a w kilku przypadkach angioTK i angiografię klasyczną oraz pomiar TpO₂ (przezskórnego tkankowego ciśnienia parcjalnego tlenu).

Utrzymywano grupę kontrolną, w której stosowano klasyczną terapię zachowawczą.

Plazmid podawano w licznych (50-100) domięśniowych iniekcjach w łącznej objętości około 15-20ml, zawierających około 2µg substancji. Iniekcje wykonywano na granicy obszaru niedokrwionego i wzdłuż linii odpowiadającej przebiegowi naczyń osiowych. Ocena obejmowała stan przed zabiegiem, bezpośrednio po nim, po tygodniu, miesiącu i po 3 miesiącach. Jedynie niewielki odsetek chorych zniknął z obserwacji (8%).

Rezultaty uzyskane w grupie leczonej plazmidem były znacznie lepsze niż w grupie kontrolnej i obejmowały między innymi zmniejszenie o ponad 50% odsetka chorych, u których konieczne były duże zabiegi amputacyjne, gojenie owrzodzeń, poprawę obiektywnych parametrów ukrwienia tkanek.

Zgodnie z doniesieniami z literatury kluczową rolę w angiogenezie odgrywają komórki multipotencjalne. Pierwsze prace nad zastosowaniem komórek progenitorowych w leczeniu krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych opisali Hamano K, Nishida M. w 2001 roku. Zakłada się, że dostarczenie do niedokrwionych tkanek komórek multipotencjalnych zwiększa możliwość aktywacji neoangiogenezy poprzez ich zdolność do przekształcania się w komórki śródbłonna i mięśni gładkich, udział w produkcji czynników wzrostu. Ze względu na łatwość uzyskania dużej

liczby komórek zdecydowałem się na użycie ich zasobów zawartych w szpiku kostnym. Szpik pobierano z kości biodrowej. Preparat szpiku wymagał przygotowania, filtracji, oczyszczenia, oddzielenia niewielkiej frakcji komórek potencjalnie progenitorowych. Początkowo separację komórek przeprowadzano we współpracy z zespołem Kliniki Hematologii i Onkologii Dziecięcej UM we Wrocławiu, potem zaś samodzielnie korzystając z dostępnych zestawów do separowania szpiku kostnego (BAMAC). Uzyskany preparat zawierał komórki jednojądrzaste z populacją komórek CD34+ i był pozbawiony zanieczyszczeń. Prowadzono kontrolę preparatu – badanie rozmazu i posiewy. Preparat podawano w licznych iniekcjach domięśniowych (podobnie jak plazmid) i oceniano te same parametry co u chorych leczonych plazmidami czynników wzrostu w trzymiesięcznym okresie obserwacji. Terapię eksperymentalną przeprowadzano po uzyskaniu zgody świadomej pacjentów cierpiących na krytyczne niedokrwienie kończyn dolnych, po wyczerpaniu możliwości leczenia konwencjonalnego. Stosowano te same kryteria włączające i wyłączające. Grupę kontrolną stanowili chorzy leczeni konwencjonalnie. Odnotowałem lepsze wyniki po leczeniu preparatem komórek szpiku (progenitorowych) niż w grupie kontrolnej i podobne jak w grupie chorych leczonej poprzez podanie preparatów bicistronowych.

Na podstawie osiągniętych wyników z wykorzystanie plazmidów i komórek progenitorowych zdecydowałem o połączeniu transplantacji komórek szpiku z terapią genową. Terapia krytycznego niedokrwienia kończyny dolnej jednocześnie komórkami macierzystymi i plazmidem VEGF była pionierskim badaniem klinicznym w skali międzynarodowej.

4.4. Podsumowanie i wnioski. Wykorzystanie osiągniętych wyników

Prace stanowiące rozprawę habilitacyjną są poświęcone problematyce leczenia krytycznego niedokrwienia kończyn metodami terapii genowej z użyciem genwów kodujących czynniki wzrostu.

Działania obejmują cały proces naukowy oceny możliwości działań proangiogennych, poczynając od oceny aktywacji produkcji czynników wzrostu w niedokrwionych tkankach, poprzez badania na modelu zwierzęcym do zastosowania ich w terapii eksperymentalnej.

W badaniach na modelu zwierzęcym udowodniono możliwość efektywnej stymulacji angiogenezy bez objawów ubocznych. Porównano także różne plazmidy mono i bicistronowe ustalając, które z nich mają najsilniejsze działanie proangiogenne. Pozwoliło to potwierdzić teoretyczne spekulacje i wprowadzić plazmidy do terapii eksperymentalnej. Terapia genowa, a także prowadzona równocześnie terapia komórkowa krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych w sytuacji dyskwalifikacji od leczenia inwazyjnego w porównaniu grupą kontrolną leczoną metodami konwencjonalnymi była bardzo skuteczna. Pozwoliła na zmniejszenie częstości wykonywania dużych amputacji kończyn o około 50%, częstsze zagojenie owrzodzeń i demarkację zmian martwiczych pozwalającą na wykonanie nekrektomii czy oszczędzających amputacji. Obserwowano poprawę obiektywnych parametrów ukrwienia tkanek (przezskórny pomiar parcjalnego stężenia tkankowego tlenu, współczynnika ramię/kostka, poszerzenia sieci naczyń krążenia obocznego w badaniach obrazowych). Nie stwierdzono żadnych powikłań ogólnych i miejscowych

eksperymentalnego leczenia. Terapia genowa i komórkowa jest nowym sposobem leczenia krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych, dopiero ostatnio wprowadzanym w niektórych światowych ośrodkach. Moje badania w wielu aspektach były badaniami pionierskimi. Od 2016 roku podejmuję próby włączenia terapii genowej i komórkowej do wykazu procedur refundowanych przez NFZ.

Prace były prowadzone przez dłuższy czas i obejmują niehomogeny materiał. W czasie ich prowadzenia wprowadzono nowe plazmidy (genów kodujących czynniki wzrostu), próbowano łączenia terapii plazmidowej i komórkowej (komórki multipotencjalne uzyskane ze szpiku kostnego), jak również genowej terapii sekwencyjnej polegającej na podaniu plazmidu VEGF lub bicistronu VEGF-HGF, a później plazmidu ANG-1.

Działania powyższe miały na celu wypracowanie najefektywniejszej terapii.

Kwalifikowano także różne grupy pacjentów. Początkowo jedynie cierpiących na niedokrwienie kończyny na tle miażdżycy zarostowej tętnic, a potem także chorych na cukrzycę (zespół stopcy cukrzycowej naczyniowej) i TO (zarostowo-zakrzepowe zapalenie naczyń).

Istotnym osiągnięciem ujętym w powyższym cyklu publikacji było:

- 1. Przeprowadzenie pełnego procesu naukowo-badawczego od badań podstawowych, poprzez eksperymenty na zwierzętach, aż do opracowania i zastosowania terapii eksperymentalnej.**

- 2. Wprowadzenie i rozwinięcia skutecznych, a nie stosowanych wcześniej metod genowego leczenia krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych.**
- 3. Użycie bicistronowych wektorów w stymulacji angiogenezy i terapii krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych.**

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych²

5.1. Dorobek naukowy (stan na 25.02.2022 r.)

Łączna punktacja wszystkich moich publikacji wynosi:

IF = 32,191

MNISZW/KBN = 900,00

Po wyłączeniu 5 prac stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego punktacja wynosi odpowiednio:

IF = 16,453

MNISZW/KBN = 620,00

Liczba cytowań na podstawie bazy *Web of Science Core Collection* wynosi **202 (bez autocytowań 190)**.

Indeks Hirsha (wskaźnik h) = 6.

Na mój dorobek naukowy składa się (stan na 25.02.2022 r.):

- **56 prac oryginalnych**
- **20 prac poglądowych**
- **19 innych prac (5 opisów przypadków, 1 list do redakcji, 8 rozdziałów w monografiach, 5 publikacji pełnotekstowych w suplementach czasopism).**

² szczegółowe informacje przedstawiono w załączniku „Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki.

Powyższe prace ukazały się w renomowanych czasopismach krajowych i zagranicznych, z których większość posiada współczynnik wpływu.³

5.2. Aktywny udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych

Jestem współautorem 48 doniesień konferencyjnych (25 zjazdów krajowych, 23 zjazdów zagranicznych).⁴ W 7 zgłaszanych pracach jestem pierwszym autorem.

5.3. Główne zainteresowania kliniczne i naukowe

Moje zainteresowania naukowe i prowadzone badania koncentrują się na kilku tematach badawczych:

- 1. Terapia krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych za pomocą komórek macierzystych pozyskanych ze szpiku kostnego oraz terapia genowa z użyciem plazmidów kodujących czynniki wzrostu.**

Prace i zagadnienia w większości przedstawiono powyżej.

- 2. Terapia krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych, zwłaszcza w przebiegu cukrzycy z użyciem przeszć żylnych umieszczonych *in situ*.**

³ dokładna analiza bibliometryczna publikacji potwierdzona przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przedstawiona w osobnym załączniku.

⁴ szczegółowy wykaz streszczeń zjazdowych potwierdzony przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przedstawiono w osobnym załączniku.

Prowadzenie prac nad terapią genową krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych skłoniło mnie do próby poszerzenia możliwości leczenia operacyjnego. Po stażu w Helios Klinikum (Niemcy, Berlin, 2012) wprowadziłem do praktyki w Klinice Chirurgii Naczyniowej UM we Wrocławiu dystalne (udowo-piszczelowe/strzałkowe) przeszła żyłne (z żyły odpiszczelowej lub odstrzałkowej) umieszczonej *in situ*. Zabiegi te często umożliwiły leczenie operacyjne w przypadkach dyskwalifikowanych od interwencji z zakresu klasycznej chirurgii naczyniowej, jak również zabiegów endowaskularnych.

3. Chirurgia tętnic dogłowych i diagnostyka ich patologii ze szczególnym uwzględnieniem skojarzenia badań ultrasonograficznych tętnic zewnątrzczaszkowych i wewnątrzczaszkowych.

Przedmiotem mojego zainteresowania naukowego było badanie krążenia wewnątrzczaszkowego przy różnych patologiach tętnic zewnątrzczaszkowych (zwłaszcza zespole podkradania tętnicy podobojczykowej) za pomocą ultrasonograficznego Dopplerowskiego badania przezczaszkowego (z wizualizacją), a zwłaszcza ocena wartości tego badania skojarzonego ze standardowym ultrasonograficznym badaniem zewnątrzczaszkowych tętnic dogłowych. Uzyskane wyniki pozwoliły na bardziej precyzyjną kwalifikację do ewentualnego leczenia zabiegowego, uniknięcia niepotrzebnych, a niebezpiecznych interwencji, doprecyzowanie grupy chorych zagrożonych udarem.

4. Wczesna i szybka diagnostyka zakrzepicy żył głębokich i zatorowości płucnej.

Od 1999 roku prowadziłem wieloletnie badania w przypadku podejrzenia zakrzepicy żył głębokich i zatorowości płucnej u pacjentów kierowanych na ostry dyżur chirurgii naczyniowej. Celem badania było szybkie i pewne ustalenie diagnozy żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej. Wykorzystywałem różne metody diagnostyczne, między innymi: angiotomografię, scyntyografię, ultrasonografię i badanie parametrów układu krzepnięcia. Ostatecznie wypracowałem skuteczny i niskokosztowy algorytm szybkiej diagnostyki, użyteczny zwłaszcza w warunkach ostrego dyżuru.

5. Przeszczep kończyny górnej od dawcy zmarłego.

Doświadczenie kliniczne uzyskane w czasie pionierskich operacji przeszczepienia kończyny górnej zaowocowało pracami dotyczącymi sposobu wykonania, opieki nad chorym, powikłań infekcyjnych, metabolicznych oraz zmian immunologicznych i postaci klinicznych odrzucania w tej grupie pacjentów. Współpracowałem z zespołem Kliniki Chirurgii Ręki UM we Wrocławiu i Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej UM we Wrocławiu.

6. Ocena rewaskularyzacji kończyn dolnych za pomocą implantacji protezy naczyniowej aortalno-dwuudowej.

Badanie wieloletnich efektów rewaskularyzacji kończyn dolnych za pomocą wszczepienia naczyniowej w odcinku aortalno-udowym. Szczególnie rozpatrywano powikłania późne. Uzyskane wyniki były przedmiotem wieloczynnikowej analizy. Początkowo prowadzono analizę retrospektywną, która od roku 2000 stała się podstawą do planowych badań prospektywnych. Pierwsza część badań stała się podstawą mojej pracy doktorskiej.

7. Leczenie infekcji w przypadku użycia biomateriałów, zastosowanie sieci większej.

Badania eksperymentalne na modelu zwierzęcym były prowadzone wspólnie z Katedrą Mikrobiologii UM we Wrocławiu. Dotyczyły głównie możliwości i skuteczności leczenia za pomocą sieci większej infekcji bakteryjnej w przypadku implantacji do jamy otrzewnowej materiałów sztucznych (biomateriały pokryte biofilmem bakteryjnym).

8. Leczenie infekcji protezy naczyniowej.

Od 1997 roku uczestniczyłem w badaniach dotyczących infekcji protez naczyniowych. W wyniku przeprowadzonych prac doświadczalnych oraz badań klinicznych uzyskano zdecydowany postęp we wczesnej diagnostyce zakażeń w chirurgii naczyniowej z wykorzystaniem badań radioizotopowych - scyntygrafii znakowanymi ^{99}Tc leukocytami. Następnie opracowano własny algorytm postępowania operacyjnego w leczeniu zakażonych protez naczyniowych uzyskując bardzo dobre wyniki z opracowaniem dostępu operacyjnego, użycia sieci większej

i wykorzystaniem homograftów aorty oraz syntetycznych protez naczyniowych powlekanych solami srebra oraz protez biologicznych.

9. Badania nad etiopatogenezą i patofizjologią chorób naczyniowych: tętniaków aorty brzusznej i zmian miażdżycowych.

Początkowo prowadziłem badania pobieranych śródoperacyjnie fragmentów ściany tętnicy szyjnej. Wykorzystywałem technikę PCR stwierdzając obecność DNA bakterii *Chlamydia pneumoniae*. Dało to asumpt do potwierdzenia infekcyjnej teorii miażdżycy zarostowej tętnic.

Później oceniałem w ścianie naczyń stymulację reakcji zapalnej i uwalnianie enzymów proteolitycznych, co sprzyja degradacji ściany naczynia tętniczego. Potwierdziłem wzrost aktywności elastazy leukocytarnej w ścianie tętniaków aorty brzusznej. Wzmoczona aktywność niektórych metaloproteaz ukierunkowała dalsze badania. Wspólnie z Zakładem Technik Molekularnych Katedry Medycyny Sądowej AM we Wrocławiu prowadziłem badania genetyczne nad wyznaczeniem czynników prognostycznych istotnych dla ekspansji i pęknięcia tętniaków aorty brzusznej. Analizie poddano materiał kliniczny pobranych w czasie operacji pękniętych i niepękniętych tętniaków aorty brzusznej operowanych w Katedrze i Klinice Chirurgii Naczyniowej Ogólnej i Transplantacyjnej pozwoliło to na udowodnienie aktywacji czynników transkrypcyjnych w ścianie tętniaków aorty. Grupę kontrolną stanowił materiał pobrany w czasie

pobrań wielonarządowych. W ostatnich latach współpracuję w badaniach nad wpływem ciśnienia w worku tętniaka wyłączanego z krążenia za pomocą stentgraftu na wystąpienie przecieków i skutecznością leczenia.

5.4. Tłumaczenia podręczników

1. Christopher K.Zarins, Bruce L.Gewertz, redakcja wydania polskiego Waldemar Kostewicz, Atlas chirurgii naczyń, rozdział Omówienie operacji wewnątrznacyniowych, Wydawnictwo Medyczne Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2007, ISBN 978-83-60290-23-1.
2. Vikram Dogra, Deborah J. Rubens pod redakcją Wiesława Jakubowskiego, Sekrety ultrasonografii, rozdział *Ultrasonografia naczyniowa*, Wydawnictwo Medyczne Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2005, ISBN 978-83-89581-72-3.

5.5. Współpraca

Brałem czynny udział, w realizacji licznych badań prowadzonych w Klinice Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej. Poza tym współpracuję z innymi Klinikami i Zakładami UM we Wrocławiu (m.in. Kliniką Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, Kliniką Neurologii, Kliniką Chirurgii Urazowej i Chirurgii Ręki, Zakładem Mikrobiologii, Zakładem Radiologii, Katedrą Histologii, Zakładem Anatomii Patologicznej, Zakładem Medycyny Sądowej) oraz z uczelniami wrocławskimi (Politechniką Wrocławską, Uniwersytetem Przyrodniczym), a także Zintegrowanym Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej WROVASC.

Opublikowane prace stanowią dopełnienie mojego dorobku naukowego.

Część badań międzywydziałowych i międzyuczelnianych jest kontynuowana, z moim aktywnym udziałem.

Badania naukowe, w ramach których powstała większość moich opracowań były (lub są) prowadzone w oparciu o następujące **źródła finansowania**:

1. Od roku 2008 rozpocząłem stałą współpracę w ramach projektu kluczowego pod nazwą „WROVASC – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej”, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, na lata 2007-2013. Byłem zaangażowany w realizację zadania nr 11: *Terapeutyczna angiogeneza z wykorzystaniem terapii genowej i komórkowej w leczeniu chorób niedokrwiennych*, dzięki któremu przygotowano ekspresyjne wektory plazmidowe kodujące geny proangiogenne, pozwoliło na sprawdzenie ich zdolności do indukcji terapeutycznej angiogenezy oraz możliwości różnicowania komórek macierzystych. Równolegle prowadzone były badania polegające na ocenie profilu ekspresji genów proangiogennych i mRNA w komórkach infekowanych przygotowanymi wektorami. Pozwoliło to na przeprowadzenie badań doświadczalnych na modelu zwierzęcym i opracowanie terapii krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych u ludzi.
2. Projekty badawcze realizowane w ramach badań własnych Uczelni.
3. Środki własne.

5.6. Badania prowadzone w ramach grantów uczelnianych

Projekty badawcze realizowane w ramach badań własnych Uczelni:

Kierownictwo:

1. Badania genetyczne w patogenezie tętniaka aorty brzusznej, 2010-2012, ST-489.
2. Różnorakie aspekty kliniczne polimorfizmu w genie LOX L1, 2008-2010, ST-162.
3. Terapia komórkami CD 34 w leczeniu krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych, 2006-2008.

Uczestnik:

1. *Ocena skojarzonej terapii komórkami macierzystymi inkubowanymi z genem VEGF i ozonem owrzodzeń podudzi o mieszanej etiologii z użyciem metod fotometrycznych* – Kierownik: G. Kałuża, 2010-2013. ST-490.
2. *Konstrukcja wektora plazmowego – angiopoetyna 1 – VEGF w celu terapii genowej* - Kierownik: J. Skóra, 2008-2010. ST-161.
3. *Stworzenie efektywnych metod transfekcji* – Kierownik: J. Skóra.
4. *Terapia genowa w miażdżycy zarostowej tętnic* 2004-2006.
5. *Zastosowanie komórek macierzystych w miażdżycy tętnic* 2004-2006.
6. *Prace badawcze nad hodowlą komórek macierzystych śródbłonna i metodami ich transfekcji* – Kierownik: J. Skóra, 2007-2009. ST-159.
7. *Badania genetyczne w patogenezie tętniaków aorty brzusznej* - Kierownik P. Szyber, 2010-2012. ST 489.

8. *Czynniki wpływające na tworzenie struktur biofilmu przez kliniczne szczepy Klebsiella* – Kierownik: B. Mączyńska, 2010-2012.

5.7. Staże zagraniczne

- 1990 Utrecht (The University Medical Central Utrecht), Holandia
1991 Utrecht (The University Medical Central Utrecht), Holandia
1994 Västerås (Västerås Central Hospital), Szwecja
2012 Berlin (Helis Klinikum), Niemcy
2015 Leida (Leiden University Medical Center), Holandia

5.8. Towarzystwa Naukowe

Jestem członkiem następujących towarzystw naukowych:

- Polskie Towarzystwo Chirurgiczne (PTCh)
- Polskie Towarzystwo Transplantacyjne (PTT)
- Polskie Towarzystwo Chirurgii Naczyniowej (PTChN)
- Polskie Towarzystwo Flebologiczne (PTF)

Jestem członkiem i od ponad 20 lat sekretarzem Polsko-Niemieckiego Towarzystwa Chirurgów Naczyniowych. Współorganizowałem coroczne konferencje Towarzystwa.

5.9. Działalność dydaktyczna

Szkolenie przeddyplomowe:

- Prowadziłem zajęcia dydaktyczne (ćwiczenia, wykłady) z przedmiotu chirurgia i chirurgia naczyniowa ze studentami IV i VI roku Wydziału Lekarskiego, Lekarsko-Stomatologicznego i Nauk o Zdrowiu oraz

English Division Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (wcześniej Akademii Medycznej we Wrocławiu);

- Byłem opiekunem praktyk wakacyjnych studentów Uniwersytetu Medycznego;
- Byłem organizatorem i prowadzącym liczne kursy chirurgiczne dla studentów medycyny.

Szkolenie podyplomowe:

- Byłem wykładowcą na kursach chirurgii naczyniowej dla lekarzy rodzinnych i lekarzy specjalizujących się w zakresie chirurgii;
- Uczestniczyłem w układaniu pytań testowych do egzaminu specjalizacyjnego w dziedzinie chirurgii ogólnej, chirurgii naczyniowej oraz transplantologii klinicznej na zlecenie Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi;
- Jestem kierownikiem specjalizacji 2 lekarzy w zakresie chirurgii naczyniowej. Byłem kierownikiem zakończonych specjalizacji z zakresu chirurgii ogólnej, chirurgii naczyniowej i transplantologii klinicznej;
- Biorę i brałem czynny udział w pracy naukowej i dydaktycznej moich specjalizujących się pod moją opieką, a także w tworzeniu ich dorobku naukowego oraz uzyskaniu stopni naukowych doktora nauk medycznych.

5.10. Działalność organizacyjna i popularyzująca naukę

Działalność na rzecz Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu:

- Byłem wieloletnim członkiem komisji rekrutacyjnych;

- Byłem wykładowcą Dolnośląskiego Festiwalu Nauki, gdzie prowadziłem wykłady z zakresu chirurgii i transplantologii klinicznej;
- Uczestniczę w wykładach popularnonaukowych dla Uniwersytetu Trzeciego Wieku.

5.11. Organizacja konferencji, kongresów i zjazdów:

- Współuczestniczyłem w latach 1997-2019 w organizacji Polsko-Niemieckich Konferencji Towarzystwa Chirurgów Naczyniowych cyklicznie organizowanych od kilkunastu lat dla umocnienia współpracy pomiędzy chirurgami naczyniowymi Polski i Niemiec;
- Współuczestniczyłem w latach 1996-2007 w organizacji Konferencji Polskiego Towarzystwa Flebologicznego.

Wrocław, 28.02.2022 r.

Data i miejsce



Podpis