

Bydgoszcz 12. stycznia 2022 r.

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych mgr Katarzyny Wojdan pt. „Wpływ *Lactobacillus rhamnosus* GG 53103 na modulację regulacyjnych mechanizmów immunologicznych oraz odpowiedź śródbłonka naczyniowego w patogenezie miażdżycy”.

U podłoża chorób z tzw. spektrum schorzeń o etiologii miażdżycowej znajduje się nieprawidłowa funkcja śródbłonka naczyniowego. Nabłonek ten, o ile istnieje, jest w stanie produkować i uwalniać szereg związków często o przeciwstawnym efekcie których celem działania jest lokalna regulacja przepływu naczyniowego, procesów krzepnięcia czy apoptozy. Z tych względów schorzenia prowadzące do niszczenia śródbłonka naczyniowego takie jak chociażby cukrzyca, palenie tytoniu czy brak ruchu prowadzą do zaburzenia delikatnej równowagi i inicjacji szeregu procesów prowadzących do pełnoobjawowej choroby. Leczeniem bliskim ideału jest działanie przyczynowe, które niestety w związku z wielochorobowością nie zawsze może być wdrożone. Leczenie przyczynowe stanowi cenną farmakoterapię uzupełniającą, a w niektórych sytuacjach jest jedyną opcją terapeutyczną. W grupie leków klasycznych, często środek taki jest rejestrowany do stosowania w określonym wskazaniu, a po odkryciu kolejnych mechanizmów działania modyfikowane są wskazania i przeciwwskazania. Bardzo ciekawe są zależności zachodzące pomiędzy dietą, florą jelitową i funkcją naczyń.

Wpływ bakterii probiotycznych na funkcjonowanie organizmu jest znany, a mimo to wciąż poznajemy coraz to nowe pozytywne oddziaływania. Jednym z takich kierunków jest hamowanie stanu zapalnego w przebiegu schorzeń alergicznych, czy reumatycznych. Wiadomo, że proces miażdżycowy jest ściśle związany z lokalnym szerzeniem się procesu zapalnego w związku z tym każda opcja terapeutyczna, która może ten proces ograniczyć stanowi interesującą opcję terapeutyczną.

W odniesieniu do leków o działaniu wspomagającym, wśród których znajdują się probiotyki, wobec skromnej ilości randomizowanych badań klinicznych, prowadzonych na dużych populacjach, szczególnego znaczenia nabierają badania podstawowe, wyjaśniające mechanizmy i kierunki działania leku, przekładające się następnie na efektywność i bezpieczeństwo terapii w określonych populacjach.

W przypadku probiotyków jednoznaczne określenie ryzyka i efektywności takiego działania jest dość trudne, gdyż wciąż nie poznano wszystkich mechanizmów działania. Piśmiennictwo dotyczące mechanizmów oddziaływania probiotyków na śródbłonek naczyniowy jest skąpe. Z powyższych powodów uważam, że podjęcie powyższego tematu było słuszne. Celem pracy była ocena wpływu 7-ketocholesterolu na integralność nabłonka jelitowego oraz na ekspresję mRNA IL-10 w komórkach dendrytycznych, ocena modulującego wpływu na ten proces *Lactobacillus rhamnosus* GG, a także ocena wpływu nadsączy z modelu hodowli na ekspresję mRNA okludyny, IL-33, PECAM, ICAM-1 w śródbłonku naczyniowym. Badanie przeprowadzono na hodowli komórek ludzkiego nabłonka jelitowego pochodzącego z gruczołaka jelita grubego, linia Caco-2, w odpowiednim medium odżywczym. Zarówno wykorzystywana linia komórkowa jak i wszystkie wspomagające związki i sprzęt pochodziły od uznanych dostawców. Rygorystyczne zastosowanie się do instrukcji sprawia, że uzyskane tą drogą wyniki są wiarygodne i mogą stanowić podstawę do wyciągania wniosków dotyczących mechanizmów działania.

Przedłożona do oceny praca obejmuje łącznie z pozycjami literatury i indeksami 94 strony. Piśmiennictwo, liczące 125 pozycji, głównie anglojęzyczne, zawiera najistotniejsze i najnowsze doniesienia dotyczące prezentowanego zagadnienia. Podając cytowane pozycje zastosowano używaną podczas przygotowania publikacji zasadę cytowania zgodnie z kolejnością wystąpienia w tekście. Wydaje mi się, że posłużenie się układem alfabetycznym ułatwiłoby wyszukiwanie prac w indeksie, uwzględniając zarówno liczbę

cytowanych prac jak i obszerność rozprawy. W tekście pracy znajduje się 1 zestawienie tabelaryczne i 26 klarownych rycin (w tym jedno zdjęcie) znakomicie ułatwiających zrozumienie zarówno podstaw teoretycznych jak i doskonale prezentujących uzyskane wyniki.

Układ rozprawy jest typowy dla prac doktorskich. W obszernym wstępie w oparciu o dobrze i celowo dobrane piśmiennictwo, Doktorantka zaprezentowała należyłą wiedzę z obranego tematu, omówiła budowę i rolę śródbłonka naczyniowego i mechanizmy generowania procesu miażdżycowego. Istotny element stanowi ocena czynników i mechanizmów procesu zapalnego, ze szczególnym uwzględnieniem jego roli w powstawaniu miażdżycy. Następnie Doktorantka omawiając znane i postulowane mechanizmy wpływające na istotność roli w procesie rozwoju miażdżycy śródbłonka naczyniowego i komórek dendrytycznych.

Lektura wstępu sugestywnie prowadzi czytelnika do rozdziału „Cele pracy”, uzasadniając celowość podjęcia badań będących tematem rozprawy. Rozdział „Metody” prezentuje prawidłowy dobór materiału badawczego. Doktorantka skrupulatnie opisała zastosowaną procedurę badania.

Doktorantka opierając się na uzyskanych wynikach stwierdza, że bakterie probiotyczne *Lactobacillus rhamnosus* GG korzystnie wpływały na integralność śródbłonka naczyniowego, ekspresję mRNA okludyny w komórkach śródbłonka, a także oddziaływały na funkcje immunomodulujące śródbłonka naczyniowego poprzez zmniejszenie ekspresji mRNA IL-33 i wzrost ekspresji mRNA ICAM-1. Działanie to było wynikiem ukierunkowania komórek dendrytycznych w stronę profilu tolerogennego. Wtórne zmniejszenie integralności śródbłonka i miejscowego odczynu zapalnego może stanowić ciekawy aspekt terapeutyczny, a także element prewencji w schorzeniach sercowo-naczyniowych. W syntetycznej dyskusji Doktorantka trafnie konfrontuje

otrzymane wyniki z danymi z literatury. Praca poprawna edytorsko, znajdując się w niej pojedyncze błędy literowe.

Praca ma istotne walory poznawcze, a wnioski wynikające z pracy mają wartość praktyczną i przyczyniają się do wzbogacenia wiedzy na temat mechanizmów oddziaływania bakterii probiotycznych na funkcję naczyń. Temat pracy stanowczo zasługuje na dalsze kontynuowanie. Można spodziewać się, że po przeprowadzeniu oceny klinicznej weryfikującej w grupie osób chorych lub osób o łatwym do oszacowania podwyższonym ryzyku wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych, uzyskane w przeprowadzonym badaniu eksperymentalnym wyniki powstanie bardzo wartościowy i unikalny materiał pozwalający na modyfikowanie spektrum zastosowań probiotyków.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tj. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). W tym przekonaniu mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie mgr Katarzyny Wojdan do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wobec innowacyjności i dużej wartości merytorycznej pragnę wystąpić z wnioskiem o wyróżnienie pracy.

429592E
prof. dr hab. med.
Grzegorz Grześk
specjalista kardiologii,
farmakologii klinicznej
i chorób wewnętrznych,