

Bydgoszcz 10. lipca 2022 r.

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarz Aleksandry Legęzy-Zdunek pt. „Wpływ białka HMGB1 na właściwości barierowe i immunomodulujące śródbłonna naczyniowego w patogenezie miażdżycy”.

U podłoża chorób z tzw. spektrum schorzeń o etiologii miażdżycowej znajduje się nieprawidłowa funkcja śródbłonna naczyniowego. Prawidłowo funkcjonujący śródbłonek jest w stanie produkować i uwalniać szereg związków często o przeciwnym efekcie których celem działania jest lokalna regulacja przepływu naczyniowego, procesów krzepnięcia czy apoptozy. Z tych względów schorzenia prowadzące do niszczenia śródbłonna naczyniowego takie jak chociażby cukrzyca, palenie tytoniu czy brak ruchu prowadzą do zaburzenia delikatnej równowagi i inicjacji szeregu procesów prowadzących do pełnoobjawowej choroby naczyń np. wieńcowych. Wśród czynników odpowiedzialnych za zaburzenie integralności funkcjonalnej śródbłonna naczyniowego znajduje się też wczesny okres sepsy.

Mimo, że wpływ wymienionych czynników jest ogólnie znany to wciąż poznajemy nowe szlaki biorące udział w tym procesie. Wiadomo, że proces miażdżycowy jest ściśle związany z lokalnym szerzeniem się procesu zapalnego w związku z tym każda opcja terapeutyczna, która wynikać będzie z poznania nowych mechanizmów stanowić może interesującą opcję terapeutyczną.

W przypadku oddziaływania szeregu białek na inicjację i utrzymanie lokalnego procesu zapalnego jest dość trudne, gdyż wciąż nie poznano wszystkich mechanizmów działania. Piśmiennictwo dotyczące mechanizmów oddziaływania białek biorących udział w aktywacji procesu zapalnego na śródbłonek naczyniowy jest wciąż skąpe. Z powyższych

powodów uważam, że podjęcie powyższego tematu było słuszne. Celem pracy była ocena wpływu białka HMGB1 samodzielnie oraz w skojarzeniu z lipopolisacharydami bakteryjnymi na właściwości barierowe, apoptozę oraz ekspresję mRNA okludyny, MCP-1, IL-33 w komórkach śródbłónka naczyniowego. Badanie przeprowadzono na hodowli ludzkich komórek śródbłónka żyły pępowinowej (HUVEC), w odpowiednim medium odżywczym, indukowanej białkiem HMGB1 oraz białkiem HMGB1 i lipopolisacharydami bakteryjnymi. 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 80 stron. Piśmiennictwo, liczące 155 pozycji, głównie anglojęzycznych, 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 5 zestawień tabelarycznych i 16 klarownych rycin (w tym jedno zdjęcie wykorzystywanego w badaniu sprzętu) znakomicie ułatwiających zrozumienie zarówno podstaw teoretycznych jak i doskonale prezentujących uzyskane wyniki.

Układ rozprawy jest typowy dla prac doktorskich będących monografią. W obszernym wstępie w oparciu o dobrze i celowo dobrane piśmiennictwo, Doktorantka zaprezentowała należyłą wiedzę z obranego tematu, omówiła budowę i rolę śródbłónka naczyniowego i udział śródbłónka w procesie miażdżycowym. Ważnym elementem wstępu jest omówienie budowy, funkcji i mechanizmów działania receptorów dla HMGB1.

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 oddziaływanie białka HMGB1 zmienia się w zależności od jego stężenia, w stężeniach mniejszych (0.1 $\mu\text{g/mL}$) nie wpływa na integralność śródbłonka naczyniowego, jego apoptozę i żywotność komórek, a także na ekspresję mRNA MCP-1, zwiększając ekspresję mRNA IL-33. Zastosowane 10 krotnie wyższe stężenia HMGB1 wpływały na integralność śródbłonka naczyniowego oraz ekspresję mRNA okludyny. Jeszcze większe stężenia (2,5 $\mu\text{g/mL}$) pozwoliły zaobserwować wpływ na integralność, ekspresję mRNA okludyny i MCP-1. Lipopolisacharydy prowadziły do zmniejszenia integralności śródbłonka naczyniowego i ekspresję okludyny i wzrost ekspresji mRNA MCP-1. Ważne jest spostrzeżenie, że jednoczasowa 24 godzinna inkubacja w obecności lipopolisacharydów i HMGB1 prowadzi do zmniejszenia integralności śródbłonka naczyniowego ze zmniejszeniem ekspresji okludyny i zwiększeniem ekspresji MCP-1. Obserwacje te podkreślają zjawisko zróżnicowania odpowiedzi na oddziaływanie HMGB1 od działania immunomodulującego w niskich stężeniach do działania prozapalnego w wyższych. W syntetycznej dyskusji Doktorantka trafnie konfrontuje otrzymane wyniki z danymi z literatury. Praca poprawna edytorsko, znajdują 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 tkankowych białek indukujących procesy zapalne na funkcję naczyń. Temat pracy stanowczo zasługuje na dalsze kontynuowanie. Warto ocenić dokładniej dynamikę zachodzących procesów, a także pokusić się o poszukiwanie czynników je modulujących.

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 lekarz Aleksandry Legęzy-Zdunek 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.