

Prof.zw. dr hab. n. med. Andrzej Wiczowski
Akademia Techniczno-Humanistyczna
Bielsko-Biała
Wydział Nauk o Zdrowiu

Piekary Śląskie 21.06.2016

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Justyny Czapli pt. „ Wpływ transplantacji ludzkich sercowych komórek mezenchymalnych zrębu na strukturę i funkcje pozawałowego serca myszy” wykonana pod kierunkiem Pana prof. dr hab. n. przyr. Stanisława Szali

Długi i złożony tytuł pracy sugeruje podjęcie przez Autorkę równie złożonych i trudnych badań, dlatego na 20 stronach wstępu wyjaśnia skąd się biorą komórki mezenchymalne zrębu, jakie są ich właściwości i jakie były próby ich zastosowania w terapii. Na zakończenie pisze o próbach wykorzystania komórek MSC w leczeniu chorób niedokrwienych serca. Wstęp stanowi świetny i dobrze udokumentowany przegląd aktualnego piśmiennictwa, konieczny do zrozumienia właściwego celu pracy.

Cel pracy zdefiniowany jednym zdaniem, zawiera bogatą treść, bo po pierwsze praca ma być próbą zastosowania obcogatunkowych komórek do poprawienia funkcji i struktury pozawałowego serca myszy oraz oceny czasu retencji i mechanizmu działania komórek MSC. A punktem wyjścia do eksperymentu terapeutycznego jest opracowanie metody izolacji komórek MSC z tkanki serca, warunków ich hodowli i identyfikacji oraz lokalizacji w sercu myszy po wszczepieniu. Osobnym zagadnieniem, które jest próbą zdefiniowania drogi na której komórki oddziałują na tkankę serca jest zbadanie charakteru odpowiedzi immunologicznej indukowanej obecnością komórek MSC.

Czternastrostronnicowy rozdział "Materiały i metody" jest bardzo rzetelnym i szczegółowym opisem metod izolacji, selekcji, hodowli i fenotypowania komórek MSC. Bardzo jasno opisany jest schemat postępowania z 3 grupami zwierząt , które użyto w doświadczeniu. Po wywołaniu zawału przez podwiązanie tętnicy wstępującej jednej z grup podawano komórki MSC , drugiej PBS a trzecia była grupą kontrolną u której przeprowadzono zabieg pozorowany. W tej części pracy jak i badaniach funkcji serca ultrasonografem udział wzięli kardiochirurdzy z Śląskiego Centrum Chorób Serca w Zabrze.

Po pobraniu serc Doktorantka przeprowadziła badania histologiczne wielkości blizny zawałowej, stanu zwłóknienia, liczby naczyń krwionośnych, określiła czas retencji komórek MSC oraz zidentyfikowała fenotypy makrofagów w tkance serca myszy.

Do analizy statystycznej wykorzystwała zarówno test Studenta, test U Manna-Whitneya jak i jednoczynnikową analizę wariancji.

Wyniki badań przedstawiła w czterech grupach :

1. zawierała wyniki izolacji komórek mezenchymalnych i optymalizacji ich hodowli
2. prezentowała wyniki identyfikacji fenotypowej CD105+ i CD34- komórek MSC oraz ich zdolności do adherencji i różnicowania w adipocyty, osteoblasty i chondroblasty
3. dotyczyła wyników oceny zdolności terapeutycznych wszczepionych komórek MSC
4. przedstawiała wyniki diagnostyki fenotypów makrofagów występujących w sercu myszy po wywołaniu zawału i wszczępieniu komórek MSC.

Wyniki zaprezentowane są bardzo czytelnie, w jasny sposób dokumentują przeprowadzone badania. Wykonanie tak szerokiego zakresu badań świadczy nie tylko o wyjątkowej pracowitości Doktorantki ale także potwierdza Jej szeroki zakres umiejętności badawczych.

W rozdziale „ Dyskusja „ Doktorantka podejmuje próbę oceny otrzymanych wyników. Dyskusję można podzielić na dwie części. W części pierwszej Autorka odnosi się do charakterystyki immunofenotypu komórek MSC i związanego z tym potencjału terapeutycznego. Akcentuje związek między receptorem CD105 a endogliną i TGF beta 1, który ma wpływ na proliferację i migrację komórek śródbłonna naczyń, reguluje syntezę kolagenu i przebudowę blizny pozawałowej.

W drugiej części dyskusji Autorka analizuje wpływ komórek MSC na przebieg reakcji zapalnej i ich roli w pojawieniu się w okolicy blizny pozawałowej makrofagów M2, które mają z kolei istotne znaczenie dla przebiegu gojenia uszkodzonego serca poprzez zmianę środowiska z pro- na przeciwzapalne.

Fascynująca jest obserwacja, że obcogatunkowe komórki wykorzystane w alloprzeszczepie unikają rozpoznania i odrzucenia przez komórki immunologiczne gospodarza. Doktorantka tłumaczy ten fakt brakiem ekspresji na komórkach MSC antygenów MHC klasy II lub krótkotrwałym kontaktem komórek z organizmem myszy, który nie zdąży wytworzyć jeszcze skutecznej odpowiedzi immunologicznej.

Pracę kończy 7 wniosków odpowiadających ściśle na przyjęte i zrealizowane cele pracy. Cztery ostatnie dotyczą charakteru stymulacji immunologicznej która z kolei ma wpływ na wyniki przedstawione we wniosku 3. Wnioski 1 i 2 charakteryzują cechy fenotypowe i czynnościowe komórek MSC oraz czas retencji tych komórek w mięśniu sercowym myszy.

Podsumowując, przeczytałem pracę z dużym zainteresowaniem, porusza pasjonujący temat możliwości naprawy mięśnia sercowego przy pomocy heterogennych komórek podawanych bezpośrednio do mięśnia. Doktorantka jednoznacznie wykazała, że komórki MSC stymulują wzrost unaczynienia w bliźnie pozawałowej i na jej granicy z tkanką prawidłową, zmniejszają rozmiary blizny, stopień jej zwłóknienia i poprawiają funkcję wyrzutową lewej komory serca. Są to bardzo optymistyczne obserwacje. Aby otrzymać takie wyniki Doktorantka musiała przeprowadzić szereg pracochłonnych badań, wykazać się dużymi umiejętnościami technicznymi w posługiwaniu się metodami immunocytometrii, immunohistochemii, immunofluorescencji i hodowli komórek. Otrzymane wyniki przedstawiła bardzo czytelnie i starannie a doskonała znajomość piśmiennictwa, bardzo licznego z ostatnich lat, pozwoliła Jej na przeprowadzenie interesującej dyskusji.

Na podstawie wyżej przedstawionej oceny mogę stwierdzić, że praca mgr Justyny Czapli pt. „Wpływ transplantacji ludzkich sercowych komórek mezenchymalnych zrębu na strukturę i funkcje pozawałowego serca myszy” spełnia warunki określone w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.Nr65, poz.595, z póź.zm.) i wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie o dopuszczenie mgr Justyny Czapli do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z uwagi na wysoką wartość naukową i sposób realizacji przedstawionej do recenzji pracy wnoszę o wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.

Andrzej Wiczkowski

