

PROF. DR HAB. N. MED. WOJCIECH WOJAKOWSKI

III KATEDRA KARDIOLOGII

ŚLĄSKIEGO UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO

40-635 KATOWICE, ZIOŁOWA 47

TEL/FAX. (032) 252 3930

Katowice, 16 czerwca 2016 r.

**Ocena rozprawy doktorskiej
mgr inż. biotechnologii Justny Czapli**

**„Wpływ transplantacji ludzkich sercowych komórek mezenchymalnych zrębu
na strukturę i funkcję pozawałowego serca myszy”**

Od czasu skutecznego przeszczepu szpiku kostnego ze wskazań hemato-onkologicznych prowadzone są badania nad zastosowaniem komórek macierzystych i progenitorowych (KMP) szpiku kostnego w leczeniu chorób innych narządów, w tym m.in. serca i naczyń. W przypadku terapii komórkowej chorób serca większość danych pochodzących z badań klinicznych dotyczy skuteczności KMP izolowanych z własnego szpiku kostnego pacjenta. W ostatnich latach podkreśla się, że choroby współistniejące i wiek pacjenta mogą powodować, że autologiczne KMP nie są optymalnymi dla eksperymentalnej terapii komórkowej, ponieważ mają upośledzoną funkcję migracji i angiogenezy, a także zwiększoną podatność na procesy starzenia komórkowego. Oprócz komórek szpiku kostnego komplementarnym elementem reakcji naprawczej organizmu jest obecność populacji rezydentnych, posiadających zdolności naprawcze KMP w różnych narządach, w tym w sercu. Komórki mezenchymalne zrębu izolowane z serca poddają się ekspansji w stopniu wystarczającym do zastosowania w badaniach klinicznych. Pozawałowe uszkodzenie lewej komory serca prowadzące do niewydolności serca jest poważnym problemem klinicznym. W tym aspekcie bardzo istotne jest poszukiwanie nowych terapii które mogą prowadzić do zmniejszenia rozległości zawału oraz ograniczających uszkodzenie reperfuzyjne strefy okołozawałowej.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Justyny Czapli Julii Borowczyk jest ambitnym projektem mającym na celu ocenę, czy w implantacja do mięśnia sercowego ksenogenicznych komórek mezenchymalnych izolowanych z serca pozwala na ograniczenie pozawałowego uszkodzenia lewej komory serca.

Praca doktorska mgr Justyny Czapli ma układ formalny typowy dla rozprawy doktorskiej. Obejmuje 89 stron (19 stron wstępu, 1 stronę omawiającą założenia i cele pracy, 24 strony omawiające metodykę, 23 strony zawierające wyniki, 6 stron dyskusji oraz 1 stronę zawierającą wnioski, streszczenie w j. angielskim w formie aneksu). W pracy Autorka powołuje się na 175 pozycji piśmiennictwa z czego większość pozycji pochodzi z ostatnich 5 lat. Na początku pracy Doktorantka zamieściła wykaz i rozwinięcie stosowanych w pracy skrótów, co istotnie ułatwia jej czytanie. Rozprawa zawiera ponadto 8 tabel i 14 rycin. Od strony edytorskiej praca jest bardzo starannie opracowana.

We wstępie Doktorantka omówiła charakterystykę morfologiczną, molekularną i funkcjonalną komórek mezenchymalnych oraz ich zastosowanie w doświadczalnej terapii. Wstęp jest napisany w jasny i kompetentny sposób, a jego konstrukcja ułatwia czytającemu zrozumienie hipotezy badawczej będącej podstawą dysertacji. Sposób w jaki Autorka omawia wymienione zagadnienia świadczy o jego świetnej znajomości tematu. Myślę, że wysokiej wartości merytorycznej wstępu nie umniejszyła jego modyfikacja polegająca na dodaniu paragrafu omawiającego model badawczy [korzyści ale i ograniczenia wynikające z zastosowanego modelu badawczego (model bez reperfuzji u myszy)].

Założenia i cel pracy zostały sformułowane w sposób jasny i spójny. Celem niniejszej rozprawy doktorskiej jest wykazanie, czy ksenotransplantacja izolowanych z ludzkiego serca MSC prowadzi do poprawy funkcji serca w modelu zawału serca u myszy. Autorka sformułowała następujące cele szczegółowe: 1) izolacja i optymalizacja hodowli ludzkich sercowych MSC, 2) identyfikacja w sercu myszy przeszczepionych MSC, 3) ocena wpływu transplantacji na wielkość blizny pozawałowej, włóknienie, angogenezę oraz funkcję serca, 4) ocena wpływu przeszczepu na reakcję zapalną.

Metodyka pracy została opisana w sposób jasny i wyczerpujący. Opis metodyki pozwala na powtórzenie eksperymentu. Zarówno na pobranie i badanie tkanek ludzkich jak i na doświadczenia na zwierzętach uzyskano odpowiednie zgodny Komisji

Bioetyki. MSC izolowano z fragmentów prawej komory eksplantowanych serc 9 pacjentów poddawanych OHT. W opisie metodyki (2.5 Model terapeutyczny) proponuję zmienić sformułowanie, że „po podwiązaniu LAD wykonano badanie echokardiograficzne w celu oznaczenia wielkości wywołanego zawału”. Zawał oceniano histomorfometrycznie, a w UKG oceniano kurczliwość lewej komory serca. Proponuję także dodać we wstępie rozdziału „Metodyka” informację o liczebności grup i śmiertelności po zabiegu i w obserwacji odległej, a także informacje ile zwierząt z każdej grupy miało LVEF 30-48%.

Wyniki zostały opisane w sposób jasny i wyczerpujący. Ryciny są starannie wykonane i zawierają wszystkie konieczne informacje. Do analizy wyników użyto właściwych metod statystycznych.

W wyniku wykonanych eksperymentów wykazano:

- a) Obecność w ludzkich sercach komórek o fenotypie i cechach funkcjonalnych spełniających kryteria MSC
- b) Retencję transplantowanych komórek oceniona na 7 dni
- c) Korzystny wpływ ludzkich MSC polegający na zmniejszeniu obszaru zawału, hamowaniu włóknienia, stymulacji angiogenezy i poprawie kurczliwości
- d) Hamujący wpływ MSC na procesy zapalne

Proponuję unikać w opisie badanych parametrów określenia „poziom” (np. poziom LVEF, poziom komórek) i zastąpić określeniami odpowiednio „wartość” i „liczba”.

W dyskusji omówiono wyniki w kontekście aktualnego piśmiennictwa. Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością tematu, a sposób prowadzenia dyskusji jest systematyczny, co ułatwia jej czytanie.

Autorka sformułowała 7 wniosków, które odpowiadają na pytanie postawione w założeniach i celach pracy. Zaproponowane wnioski są spójne z wynikami analiz i prawidłowo sformułowane.

W mojej opinii badanie będące podstawą przewodu doktorskiego zostało bardzo dobrze zaplanowane i przeprowadzone. Wartość poznawcza i praktyczna jest bardzo duża. Podsumowując stwierdzam, że oceniana rozprawa spełnia wymogi określone w ustawie o tytule naukowym i stopniach naukowych (Dz. U. 65/2003, poz. 595), w związku z czym pozwalam sobie wystąpić do Wysokiej Rady z wnioskiem o

dopuszczenie mgr Justyny Czapli do dalszych etapów przewodu doktorskiego.
Jednocześnie zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy.

Łączę wyrazy szacunku,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Wajenberg'.