

Prof. dr hab. Jacek Bigda
Zakład Biologii Komórki
Katedra Biotechnologii Medycznej
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed
Gdański Uniwersytet Medyczny

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marii Skrzypkowskiej:
**pt. „Aktywność komórek progenitorowych śródbłónka w nadciśnieniu
tętnicznym”**

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Jolanty Myśliwskiej

Nadciśnienie tętnicze stanowi bardzo istotny problem medyczny. Jest chorobą często występującą w naszym kraju i może prowadzić do rozwoju innych schorzeń sercowo-naczyniowych. Przyczynia się to znacząco do utrzymującej się wciąż w polskiej populacji wysokiej śmiertelności wynikającej z chorób układu krążenia. W rozwoju nadciśnienia tętniczego istotne znaczenie ma funkcja komórek śródbłónka, czyli nabłónka wyściełającego światło naczyń krwionośnych. Jego regeneracja następuje najprawdopodobniej w wyniku obecności komórek progenitorowych śródbłónka, EPC. Pochodzą one ze szpiku kostnego i mają charakter komórek macierzystych.

Przedstawiona do oceny praca stawiała sobie za cel określenie, w jaki sposób pojawienie się nadciśnienia tętniczego wpływa na śródbłónkowe komórki progenitorowe oraz jak kształtuje się ta populacja komórkowa w grupach chorych leczonych. Autorka określała ilość tych komórek progenitorowych oraz ich fenotyp charakteryzowany markerami komórkowymi, świadczący pośrednio o ich funkcji.

Realizowane badania miały pozwolić na weryfikację hipotezy mówiącej o zaburzeniach ilościowych i funkcjonalnych komórek EPC u chorych na nadciśnienie tętnicze oraz normalizacji tych stanów u chorych poddanych skutecznemu leczeniu.

Zarysowana tematyka pracy wpisowała się w nowoczesny nurt badawczy nad śródbłónkowymi komórkami progenitorowymi i stanowiła ważny obszar badań prowadzonych od wielu lat w zakresie kardiologii doświadczalnej przez zespół kierowany przez Promotora. Główny cel podjętych badań został sformułowany jasno i

został wystarczająco uzasadniony. Uzyskane liczne wyniki – wskazujące na zmiany liczebności różnych subpopulacji komórek EPC określanych na podstawie specyficznych markerów oraz zmian profilu tych subpopulacji pod wpływem leczenia – uzasadniały główne wnioski przedstawione w pracy. Doktorantka zaproponowała, że pojawienie się nadciśnienia tętniczego jest związane z mobilizacją zwiększonej ilości komórek progenitorowych zdolnych do produkcji tlenu azotu, wykazujących cechy komórek migrujących do miejsc uszkodzenia ściany naczynia. Ponieważ w długotrwałym leczonym nadciśnieniu tętniczym autorka zidentyfikowała zjawiska świadczące o niewystarczającej normalizacji profilu komórek progenitorowych, przypuszcza ona, że nawet skuteczna terapia może nie powstrzymać postępujących uszkodzeń śródbłonna. Wnioski te są ciekawe i oryginalne w świetle przeprowadzonych badań i dostępnej literatury. Rezultaty projektu doktorskiego zostały w części opublikowane w czasopiśmie o międzynarodowym zasięgu *Journal of Human Hypertension* (IF 2,8).

Dokumentacja pracy zawarta jest na ponad 200 stronach maszynopisu w układzie: wyodrębniony spis skrótów, streszczenie, wstęp, materiały i metody, wyniki, dyskusja oraz spis aktualnych i adekwatnie dobranych pozycji bibliograficznych. Układ pracy jest przejrzysty i logiczny, a język zrozumiały. Pod względem edytorskim praca jest na wysokim poziomie, odznacza się starannością i dbałością o estetykę. Niewiele jest w niej błędów interpunkcyjnych czy stylistycznych.

Wstęp rozprawy dokumentuje niewątpliwie głęboką znajomość przedmiotu Doktorantki, co jest jego niewątpliwą zaletą. Jednak zawiera zbyt liczne informacje, niekoniecznie potrzebne do adekwatnego opisu problemu badawczego, sformułowania hipotez i celów badawczych. Znajduje się w nim materiał na przynajmniej jeden artykuł przeglądowy, co nie było konieczne, a nawet utrudniło śledzenie głównej osi rozumowania.

Opis materiałów i metod jest szczegółowy i wyczerpujący, pozwalający na ich niezależne powtórzenie. Doktorantka badała 19 osób ze świeżo zdiagnozowanym nadciśnieniem tętniczym, 50 chorych poddanych wieloletniej terapii nadciśnieniowej oraz 38 zdrowych ochotników. Kluczowymi metodami wykorzystywanymi w pracy były techniki cytometrii przepływowej, pozwalające na analizę występowania na

powierzchni komórek EPC identyfikowanych jako CD34+ lub CD34+VEGFR2+ molekuł powierzchniowych identyfikujących subpopulację komórek progenitorowych oraz ich zdolność do produkcji tlenu azotu. Ponadto stosowała techniki immunoenzymatyczne (ELISA) służące ocenie poziomów angiotensyny II oraz rozpuszczalnej postaci molekuly adhezyjnej ICAM-1 w surowicy krwi. Ponadto autorce dostępne były podstawowe parametry kliniczne pozwalające na ocenę skuteczności terapii bądź wybranych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego.

Wyniki kolejnych analiz są dobrze zilustrowane i opisane szczegółowo. Uzupełnieniem opisów poszczególnych analiz są obszernie podsumowania wyników zawarte na s. 112 oraz 132-135. Rozmiar tej części pracy (ok. 70 stron) był uzasadniony i wynikał z mnogości przeprowadzanych analiz poszczególnych subpopulacji oraz prób wykazania ewentualnych korelacji z różnorodnymi parametrami klinicznymi. Został on napisany starannie, bez językowych zawilości. Wyniki są ilustrowane klarownymi, starannymi rycinami i tabelami.

Kolejna część pracy, tj. dyskusja nie jest niestety rzeczowa i spójna. Autorka podjęła się zadania przedyskutowania niemal każdej omawianej grupy wyników, nawet nieznamiennej statystycznie choć niekontrowersyjnej. Nie podjęła wstępnej selekcji wyników o największym znaczeniu dla procesu wnioskowania. Zabrakło także jasnego i przejrzystego podkreślenia walorów nowości pracy czy klarownego wypunktowania ewentualnych kontrowersji. Co przemawia na korzyść Doktorantki to ewidentne ujawnienie swej głębokiej znajomości tematyki oraz literatury, w której porusza się ze dużą swobodą. Tę swobodę może w niezamierzony sposób autorka wniosła również do podsumowujących wniosków na stronie 187, z których część ma raczej znamiona spekulacji. Podtrzymałbym spośród nich te główne, które wskazane są w streszczeniu pracy, natomiast wnioski wskazujące na związki przyczynowo-skutkowe, a wynikające jedynie z obserwowanych korelacji wybranych parametrów, traktowałbym z podejrzliwością (np. „BMI obniża zdolność kompensacji uszkodzenia śródbłonna” czy też przypisujący angiotensynie II bezpośredniego związku z zwiększoną liczbą EPC przy początkach nadciśnienia).

Inne uwagi: 1/ tytuł pracy nie jest zbyt szczęśliwy, ponieważ sugeruje przeprowadzenie przede wszystkim analiz funkcjonalnych, a nie ilościowych czy fenotypowych; 2/ termin „nadciśnieniowiec” jest raczej żargonowy, potoczny; 3/

termin „adhezyna” w niektórych miejscach był traktowany jako synonim molekuly adhezyjnej ICAM-1, co nie jest prawdą. Komentarza w trakcie publicznej obrony oczekiwałbym jeszcze w kwestii czy i w jaki sposób podana przez autorkę wartość średniego BMI w grupie kontrolnej mogła wpływać na ilość i funkcje komórek progenitorowych EPC.

W podsumowaniu: doktorantka przedstawiła wyniki noszące znamiona oryginalności naukowej, udokumentowała uzyskanie umiejętności prowadzenia samodzielnej pracy badawczej. Wykazała również umiejętność interpretacji wyników oraz konfrontacji uzyskanych wyników z danymi literaturowymi. W związku z powyższym przedstawiam opinię, że rozprawa odpowiada warunkom określonym w stosownych zapisach ustawy o tytule naukowym i stopniach naukowych i wnoszę o dopuszczenie mgr Marii Skrzypkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk, dnia 25 kwietnia 2017 roku


prof. dr hab. Jacek Bigda