

Dr hab. Grzegorz Sumara

Kierownik pracowni, Profesor Instytutu
Dioscuri Centre for Metabolic Diseases
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
ul. Ludwika Pasteura 3
02-093 Warszawa
Tel.: (+48) 22 5892 190
Email: g.sumara@nencki.edu.pl

Warszawa, 04.12.2023 r.

**Raport z oceny rozprawy doktorskiej Pani Kamili Wojnar-Lasoń zatytułowanej
„Dysfunkcja komórek śródbłonna zatok wątroby w przewlekłej niewydolności mięśnia
sercowego”**

Pani mgr Kamila Wojnar-Lasoń wykonała swój projekt doktorski w Jagiellońskim Centrum Rozwoju Leków (JCET). Promotorem pracy doktorskiej Pani Wojnar-Lasoń jest Profesor dr hab. Stefan Chłopicki, promotorem pomocniczym dr inż. Izabela Czyżyńska-Cichoń, oboje zatrudnieni w wyżej wymienionej placówce badawczej.

Głównym celem projektu naukowego Pani Kamili Wojnar-Lasoń było zbadanie zależności pomiędzy przewlekłą niewydolnością mięśnia sercowego (NS) a funkcją komórek śródbłonna zatok wątroby (z ang. Liver Sinusoidal Endothelial Cells – LSEC). W badaniach użyto mysiego modelu ze specyficzną dla kardiomiocytów nadekspresją białka Gαq (myszy Tgαq*44). Zwierzęta te rozwijają progresywną NS, pogłębiającą się wraz z wiekiem. Jako grupy kontrolnej użyto myszy ze szczepu FVB. W trakcie realizacji projektu zbadano strukturę, funkcję, proteom oraz poziom eikozanoidów w wątrobie oraz komórkach LSEC u myszy Tgαq*44 oraz zwierząt kontrolnych w różnych stadiach rozwoju NS. Przetestowano także wpływ dysfunkcji serca na poziom rozmaitych tłuszczów we krwi, markery świadczące o dysfunkcji wątroby oraz obraz histopatologiczny tego narządu. Ponadto zbadano wpływ

farmakoterapii opartej na inhibitorze ACE (z ang. Angiotensin-converting enzyme), perindoprilu, na rozwój dysfunkcji wątroby u myszy Tgαq*44.

Podstawowym wnioskiem płynącym z pracy doktorskiej Pani Kamili Wojnar-Lasoń jest to, iż u gryzoni z NS następuje defenestracja komórek LSEC obserwowana już na stosunkowo wczesnym etapie rozwoju choroby. Towarzyszą temu zmiany w kompozycji białek, strukturze cytoszkieletu komórkowego i profilu syntezy eikozanoidów w komórkach LSEC wyizolowanych z myszy prezentujących NS. U myszy Tgαq*44 zaobserwowano też podwyższony poziom trójglicerydów (TG) spowodowany prawdopodobnie zbyt małą liczbą fenestracji w komórkach LSEC, co w konsekwencji prowadzi do opóźnienia w wychwycie lipoprotein z krwi przez wątrobę. Co ciekawe, zmiany w poziomie fenestracji komórek LSEC obserwowane u myszy Tgαq*44 okazały się niewrażliwe na podawanie zwierzętom perindoprilu (inhibitora konwertazy angiotensyny), pomimo znaczącej poprawy funkcji serca przez ten lek. Wnioski te są oryginalne i znacząco poprawiają stan naszej wiedzy. Wcześniejsze opracowania skupiały się na innych aspektach wpływu NS na dysfunkcje wątroby.

Praca doktorska jest skomponowana w sposób przejrzysty. Wstęp zawiera szczegółowy opis procesów patologicznych zachodzących w wątrobie pod wpływem NS. Autorka zamieściła również opis funkcji i cech specyficznych komórek śródbłonna zatok wątroby. Brakuje nieco lepszego opisu użytego modelu mysiego. Czemu zdecydowano się na ten model, a nie inny? Czy rozwój NS u myszy Tgαq*44 lepiej oddaje patologie obserwowane u ludzi niż inne modele zwierzęce?

Sekcja metodologiczna zawiera dość szczegółowy opis przeprowadzonych eksperymentów, pozwalający na ich powtórzenie w innych laboratoriach. Znow, brakuje dokładnego opisu modelu mysiego użytego w badaniach. Jaka sekwencja promotora została użyta do osiągnięcia specyficznej ekspresji transgenu w kardiomiocytach? Czy transgen podlegał przypadkowej integracji z genomem? Te informacje pomogłyby w lepszej interpretacji wyników. Zastanawia też, dlaczego zdecydowano się na użycie myszy ze szczepu FVB jako grupy kontrolnej. Lepszą grupę kontrolną stanowiłyby zwierzęta z tego samego rozrodu co myszy transgeniczne, lecz pozbawione transgenu. Czy myszy Tgαq*44 posiadały tło genetyczne FVB? Ile razy skojarzono linie myszy Tgαq*44 z tłem FVB w celu osiągnięcia jednolitego tła genetycznego?

Wyniki badań w ocenianej rozprawie doktorskiej przedstawione są we właściwy sposób, opis jest adekwatny, a ryciny przejrzyste i łatwe do interpretacji. Metody statystyczne użyte w badaniach są również prawidłowe. Jednakże w kilku miejscach brakuje pomiarów obserwowanych zmian. Tak na przykład, poszerzenie światła sinusoid powinno zostać ujęte ilościowo (strona 50). Podobnie rozszerzenie zatok u myszy Tgαq*44 na stronie 51 i zapadnięcie przestrzeni Dissego na stronie 53 są przedstawione jedynie jakościowo, a powinna im towarzyszyć ocena ilościowa. Również na stronie 55, rycina 15, brakuje przeliczenia liczby fenestracji w komórkach LSEC u myszy z obu genotypów. Na rycinie 14 zamieszczono wyniki z przeanalizowania jednego osobnika z każdej grupy. Te wyniki powinny być poparte przynajmniej trzema powtórzeniami biologicznymi.

Dyskusja wyników ogólnie została przeprowadzona w dogłębny sposób. Jednak brakuje analizy kilku punktów. Zastanawia na przykład fakt podwyższenia ALT i TG u 4-miesięcznych zwierząt z nadekspresją Tgαq*44 w porównaniu z grupą kontrolną, lecz nie u myszy 12-miesięcznych. Ponadto powiązanie zmian w profilu syntezy eikozanoidów przez komórki LSEC ze zmianami w liczbie fenestracji w tych komórkach nie jest jasne. Czy jakieś specyficzne eikozanoidy powodują formowanie się fenestracji? Na stronie 103 i 104, autorka podaje dwa możliwe wyjaśnienia opóźnionego usuwania TG z krwi u myszy z dysfunkcją serca. Mianowicie, mniej efektywny transport lipoprotein bogatych w TG poprzez fenestracje komórek LSEC lub, co w tym przypadku jest mniej prawdopodobne, upośledzeniem funkcji hepatocytów u myszy z NS. Choć to również mniej prawdopodobne niż wyjaśnienie pierwsze, istnieje jeszcze trzecia opcja. Możliwe jest, że następuje bardziej efektywne wchłanianie tłuszczu w jelitach myszy z NS.

Jednak wszystkie te drobne pominięcia i braki w opisie lub dyskusji danych nie przysłaniają ogólnej wartości naukowej przedstawionej pracy doktorskiej. Ponadto jakość prezentowanych wyników, związek przyczynowo-skutkowy pomiędzy różnymi eksperymentami, dogłębny opis przeprowadzonych badań, użycie adekwatnej metodologii do zaadresowania przedstawionych problemów badawczych i właściwy dobór metod statystycznych świadczą o umiejętności samodzielnego przeprowadzania i przeanalizowania badań naukowych przez kandydatkę do tytułu doktora. W związku z tym potwierdzam, że praca Pani mgr Kamili Wojnar-Lasoń pt. „Dysfunkcja komórek śródbłonna zatok wątroby

w przewlekłej niewydolności mięśnia sercowego” spełnia wymogi określone w art. 187 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

W razie jakichkolwiek pytań, proszę o bezpośredni kontakt.

Z wyrazami szacunku,

dr hab. Grzegorz Sumara,

Profesor Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego