

Prof. dr hab. med. Marek Jakóbsiak
ul. Kinowa 25 m. 208
04-030 Warszawa

Warszawa 26. 10. 2015

R E C E N Z J A

Pracy doktorskiej mgr Krzysztofa Szade p.t.: „Protection of hematopoietic stem cells from premature aging – the role of heme oxygenase-1”

Badania krwiotwórczych komórek macierzystych znajdują się obecnie w centrum zainteresowania wielu naukowców. Wiąże się to głównie z rosnącym zastosowaniem tych komórek w transplantologii i w leczeniu różnego rodzaju dysfunkcji szpiku, a także w chorobach nowotworowych po terapii mieloablacyjnej.

W swej pracy doktorskiej mgr Krzysztof Szade podjął się badań mających za cel sprawdzenie dwóch hipotez, które podam w oryginale:

- The non-hematopoietic fraction of Lin⁻Sca-1⁺CD45⁻ adult bone marrow gives rise to blood cells

- HO-1 protects HSC from premature aging

Podjęcie się tych dwóch ambitnych zadań należy przyjąć z dużym uznaniem, choć wynikała z tego naturalna trudność sformułowania tytułu pracy doktorskiej obejmującego obydwie zagadnienia, które choć powiązane ze sobą to jednak zasadniczo się różnią. Trudność ta zaowocowała pewną niezręcznością, gdyż tytuł pracy odnosi się tylko do prób odpowiedzi na drugi z postawionych celów. Nieścisle wydaje się również sformułowanie pierwszej z wymienionych hipotez, gdyż zawiera ona już sama w sobie odpowiedź. Frakcja komórek szpiku, która nie jest frakcją krwiotwórczą nie może *sensu stricto* wytwarzać komórek krwi czyli nie może być krwiotwórcza. Nieściskość ta wynika z pewnego skrótu myślowego.

We wstępie Autor bardzo szczegółowo omawia w oparciu o najnowsze piśmiennictwo molekularne mechanizmy procesu krwiotworzenia, metody identyfikacji krwiotwórczych komórek macierzystych i komórek progenitorowych. Porusza również zagadnienia

heterogenności krwiotwórczych komórek macierzystych. W tej części pracy dokładnie omówione są zagadnienia starzenia się krwiotwórczych komórek macierzystych.

Przedstawiony jest aktualny stan wiedzy dotyczący częstotliwości występowania tych komórek w szpiku, powiązania pomiędzy ich potencjałem proliferacyjnym i starzeniem się, roli uszkodzeń DNA w tym procesie, a także bardzo istotnego zagadnienia jakim jest ewentualna możliwość odwrócenia tego procesu.

Akapity przedstawiające najważniejsze wyniki pracy w sposób klarowny zaczynają się od krótkiego uzasadnienia podjętego badania i kończą się wynikającym z niego wnioskiem. Wyniki pracy odnoszące się do pierwszej z postawionych hipotez w sposób przekonujący wskazują, że tak zwane komórki VSELs (very small embryonic-like cells) opisane pierwotnie jako homogenna populacja komórek wykazujących bardzo małe rozmiary i właściwości pluripotencjalne, nie mają sugerowanych im przez ich odkrywców potencjału krwiotwórczego i są wzbogacone o populację komórek mających cechy komórek wchodzących w apoptozę. Starannie przeprowadzone badania autora wykluczają zarazem wysuwane przez jego oponentów sugestie, że markery apoptozy mogą być spowodowane wynikiem fałszywie dodatnim. Przedstawione wyniki sugerują również, że komórki VSELs nie wykazują ekspresji markera Oct-4A charakterystycznego dla komórek pluripotencjalnych, co proponowali odkrywcy tych komórek. Odkrywcy komórek VSELs sugerują, że niemożność ich identyfikacji wynika z faktu, że ulegają one eliminacji w trakcie prób ich izolacji. Dlatego warto podkreślić, że autor badał trzy ich frakcje i bardzo starannie zabezpieczał się w swych badaniach przed utratą jakiegokolwiek frakcji potencjalnych komórek VSELs.

Choć spór, co do właściwości komórek VSELs nadal nie wygasł, to wyniki pracy doktorskiej mgr Krzysztofa Szade, dostarczają mocnych argumentów na brak właściwości krwiotwórczych tych komórek. Wnioski z tej pracy mogą zachęcić do zaniechania bardzo kosztownych badań i najprawdopodobniej niepotrzebnie rozbudzonych nadziei, co do ich możliwości terapeutycznych.

W części pracy poświęconej badaniu roli oksygenazy hemowej-1 w przedwczesnym starzeniu się długoterminowo odnawiających się macierzystych komórek krwiotwórczych, Autor poczynił kilka wartościowych obserwacji. Upoważniają one do stwierdzenia, że wspomniany enzym działa, zgodnie z oczekiwaniami, cytoprotekcyjnie i anty-apoptotycznie, chroniąc te komórki przed przedwczesnym starzeniem. Wyniki badań wskazują również, że najważniejszą rolę w tej ochronie odgrywa oxygenaza hemowa-1 wytwarzana nie przez same komórki macierzyste lecz przez komórki śródbłonna i siateczkowe komórki mezenchymalne wytwarzające chemokinę CXCL12 obecne w niszy szpikowej. Oxygenaza hemowa-1 wydaje

się niezbędna dla prawidłowej funkcji tej niszy. Zmniejsza ona aktywację i proliferację, tych komórek, a także liczbę uszkodzeń DNA w komórkach macierzystych, co bezpośrednio wiąże się z jej rolą obronną przed stresem oksydacyjnym i przed starzeniem się tych komórek. Brak tego enzymu powoduje zwiększoną odpowiedź na interferony typu I, zaburzenia metabolizmu komórek oraz ekspansję komórek mieloidalnych kosztem frakcji komórek limfoidalnych. Ekspresja oksygenazy hemowej-1 zmniejszała się wraz z wiekiem zwierzęcia.

W części poświęconej dyskusji Autor próbuje krytycznie ocenić otrzymane wyniki zwracając uwagę na to, że nie wszystkim komórkom obecnym w niszy szpikowej poświęcił w swych badaniach dostatecznie dużo uwagi. Próbuje również wyjaśnić na poziomie molekularnym na czym może polegać udział oksygenazy hemowej-1 w ochronie komórek macierzystych.

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że bardzo wysoko oceniam wartość naukową pracy doktorskiej mgr Krzysztofa Szade p.t.: „Protection of hematopoietic stem cells from premature aging – the role of heme oxygenase-1”. Nieścisłość w sformułowaniu odpowiedniego tytułu pracy nie traktuję jako poważnego zarzutu, gdyż trudno krytykować Autora za to, że w jednej rozprawie doktorskiej zawarł materiał, który starczyłby na dwie rozprawy. Zwracam się w związku z tym do Wysokiej Rady Naukowej Wydziału Biochemii Biofizyki i Biotechnologii o dopuszczenie mgr Krzysztofa Szade do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Marek Jakóbiś