UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Prof. dr hab. Andrzej Szuba

Zakład Angiologii

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Wybrzeże Ludwika Pasteura 4, 50-381 Wrocław

Wrocław 15.05.2019

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mateusza Tomczyka

pt.: Wrodzona odpowiedź odpornościowa w następstwie zawału serca – znaczenie makrofagów i oksygenazy hemowej-1

Wybór tematu

Choroby sercowo-naczyniowe pozostają wiodącą przyczyną zgonów oraz chorobowości we współczesnym świecie i w Polsce. Zawał mięśnia sercowego, coraz skuteczniej leczony w ostrej fazie często prowadzi do rozwoju przewlekłej niewydolności lewokomorowej. Obecnie mamy do czynienia z epidemią niewydolności serca – choruje około miliona Polaków i ciągu najbliższych 10 lat liczba ta może wzrosnąć o 25 procent i więcej. Patofizjologia rozwoju pozawałowej niewydolności serca jest jeszcze słabo poznana, dlatego badania podstawowe nad patofizjologią niewydolności serca są niezwykle ważne.

Doktorant w swoich badaniach skoncentrował się nad rolą makrofagów i oksygenazy hemowej-1 w odpowiedzi na ostry zawał mięśnia sercowego – co ujął w tytule pracy doktorskiej.

Oksygenaza hemowa-1 (HO-1) jest enzymem degradującym hem do tlenku węgla, jonów żelazawych i biliwerdyny. Oksygenaza hemowa-1 odgrywa ważna rolę w patogenezie wielu schorzeń, a także w utrzymaniu homeostazy tkankowej i przeciwdziałaniu stresowi oksydacyjnemu. Zmiany aktywności oksygenazy hemowej mają znaczenie w patogenezie chorób układu krążenia (miażdżyca, nadciśnienie, choroba wieńcowa), chorób płuc i nowotworów. Oksygenaza hemowa-1 ogrywa rolę w dojrzewaniu i różnicowaniu makrofagów. Indukcja ekspresji HO-1 ma działanie przeciwzapalne i stabilizuje blaszkę miażdżycową.

Monocyty i makrofagi są częścią reakcji zapalnej w ostrym zawale mięśnia sercowego i odgrywają ważną rolę w procesie tworzenia blizny pozawałowej.

We wstępie do pracy doktorskiej doktorant szeroko charakteryzuje oksygenaze hemową i regulację jej ekspresji zwłaszcza w niedokrwieniu mięśnia sercowego, a także metabolizm hemu. W oddzielnym podrozdziale doktorant charakteryzuje monocyty krwi obwodowej ich rolę w patogenezie miażdżycy oraz w odpowiedzi zapalnej w następstwie zawału serca.

W części ogólnej wstępu zabrakło mi tylko wzmianki o układzie limfatycznym serca, który odgrywa kluczową rolą w emigracji makrofagów z mięśnia sercowego oraz w gojeniu mięśnia sercowego po zawale serca [np.: Henri O et al. Circulation. 2016;133, Huang L et al. JACC Basic Transl Sci. 2017 2(4)]

Wstępna część rozprawy doktorskiej i cytowana w niej literatura (łącznie 216 pozycji), pomimo powyższej uwagi, wskazują na bardzo dobrą znajomość tematu i swobodę poruszania się w jego obrębie przez doktoranta.

Cel pracy

Celem przeprowadzonych przez doktoranta badań było wyjaśnienie znaczenia oksygenazy hemowej-1 w biologicznych funkcjach monocytów i makrofagów w warunkach niedokrwiennego uszkodzenia serca. Szczegółowe cele badań, które zaplanował doktorant, to: określenie, czy HO-1 wpływa na odpowiedź ze strony monocytów i makrofagów po zawale serca, zbadanie znaczenia HO-1 w procesie monocytopoezy pozaszpikowej w kontekście zawału serca oraz charakterystyka populacji makrofagów sercowych pochodzenia embrionalnego u myszy typu dzikiego i pozbawionych HO-1.

Pozawałowa niewydolność serca jest schorzeniem cywilizacyjnym, które przybrało rozmiary epidemii. Badania nad rozwojem reakcji zapalnej w odpowiedzi na ostre niedokrwienie mięśnia sercowego są niezwykle istotne dla opracowania skutecznych strategii profilaktyki i leczenia tej choroby. Dlatego uważam cel rozprawy za dobrze dobrany, a wybór tematu aktualny.

Metody

Autor zaplanował i wykonał szereg eksperymentów na zwierzętach laboratoryjnych: myszach typu dzikiego oraz myszach pozbawionych oksygenazy hemowej.

Na wszystkie doświadczenia autor uzyskał zgodę Lokalnej Komisji Etycznej. Na szczególną uwagę zasługuje staranne przygotowanie modelu eksperymentalnego zawału serca z podwójną kontrolą skuteczności indukcji zawału serca oraz wykorzystaniem grupy kontrolnej z operacją pozorowaną.

W 7, 14 oraz 21 dniu po indukcji zawału celem oceny funkcji serca doktorant wykonywał badania ultrasonograficzne serca używając sondy 30MHz. Oceniał między innymi wymiary lewej komory, grubość ścian, funkcję skurczową i frakcję wyrzutową. Badanie ultrasonograficzne jest bardzo dobrą metodą nieinwazyjnej oceny funkcji mięśnia sercowego, jest jednak metodą wymagającą, pracochłonną i trudną technicznie. Wskazuje to na duże umiejętności doktoranta.

Doktorant wykonywał też zabiegi usunięcia śledziony oraz deplecji makrofagów przyżyciowo przy pomocy liposomów z klodronianem sodu.

Po eutanazji doktorant przeprowadził badania mięśnia sercowego, krwi obwodowej, szpiku kostnego oraz wątroby.

W badaniach wykorzystywał między innymi cytometrię przepływową i immunofenotypowanie, aktywowane fluorescencyjnie sortowanie komórek (FACS), badania immunohistochemiczne, testy immunoenzymatyczne oraz analizę ilościową ekspresji wybranych genów metodą qPCR.

Zaplanowany i przeprowadzony eksperyment oraz szeroki zakres wykonanych badań świadczą o bardzo dobrym opanowaniu metod badawczych przez doktoranta.

Metodyka przeprowadzonych badań, jak również analiza statystyczna uzyskanych wyników nie budzą zastrzeżeń.

Rezultaty i Dyskusja

Opis otrzymanych rezultatów badań zawarto na 26 stronach maszynopisu oraz 20 rycinach starannie opracowanych wykresach i rycinach. Dyskusja otrzymanych rezultatów obejmuje kolejnych 14 stron pracy. Autor przeprowadził nowoczesne, pracochłonne i różnorodne badania, zgromadził dużą ilość wyników i umiejętnie je zinterpretował.

Do najważniejszych wyników pracy zaliczam wykazanie złożonej roli oksygenazy hemowej 1 w różnych fazach gojenia mięśnia sercowego po zawale oraz roli makrofagów pochodzących ze śledziony w rozwoju pozawałowej niewydolności serca.

Wyniki uzyskanych przez autora badań mają duże znaczenie zarówno naukowe jak i kliniczne i powinny zostać rozpowszechnione w formie publikacji.

Praca spełnia całkowicie wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Oceniam ją jako wyróżniającą i dlatego proszę Wysoką Radę Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz wnioskuję o nagrodzenie tej pracy.

prof. dr hab. n. med. Andrzej Szuba
specjalista chorób wewnętrznych
angiolog hipertensjolog
1322215