



Prof. dr hab. Hanna Jańska

Wrocław, 2018-09-14

Zakład Biologii Molekularnej Komórki

Wydział Biotechnologii

Uniwersytet Wrocławski

Email: hanna.janska@uwr.edu.pl

Tel. (71) 375 62 43

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Izabeli Broniarek zatytułowanej „Wpływ kwasów tłuszczowych i statyn na metabolizm tlenowy komórek śródbłonka”.

Oceniana praca doktorska opisuje wyniki badań nad funkcjonowaniem mitochondriów ze szczególnym uwzględnieniem ich funkcji bioenergetycznej w specyficznych komórkach organizmu jakimi są komórki śródbłonka wyściełające naczynia krwionośne. Mając stały kontakt z krwią komórki śródbłonka są narażone na substancje przenoszone przez krew do tkanek. W pracy analizowano wpływ kwasów tłuszczowych i statyn, substancji których poziom ulega podwyższeniu we krwi w pewnych jednostkach chorobowych. Wysokie stężenie kwasów tłuszczowych obserwuje się w cukrzycy, a ekspozycja na statyny występuje w leczeniu hipercholesterolemii. W związku z tym badania opisane w pracy doktorskiej mają wydzźwięk aplikacyjny.

Rozprawa liczy 106 stron i ma układ standardowy, choć Doktorantka wybrała rzadziej stosowany wariant w którym wyniki są połączone z dyskusją w jednym rozdziale. Wstęp pracy napisany jest bardzo dobrze, bez zbędnych szczegółów przedstawiane są informacje konieczne do zrozumienia opisywanych później wyników. Najpierw dowiadujemy się o podstawowych funkcjach mitochondriów, następnie o wpływie kwasów tłuszczowych i statyn na mitochondria. Dwa ostatnie podrozdziały poświęcone są charakterystyce komórek śródbłonka i ich mitochondriów. Zrozumienie tekstu bardzo ułatwiają schematy, których część pochodziła z pracy przeglądowej Doktorantki opublikowanej w „Postęпах Biochemii”. Równie jasno i zwięźle przedstawiony jest cel pracy, zarówno ten ogólny jak i cele szczegółowe opisujące konkretne zadania jakie zamierzała zrealizować Doktorantka. Klasycznie, rozdział „Materiały i Metody” to zbiór metod używanych w pracy. Nie

komórek śródbłonka na skutek długotrwałego ich traktowania podwyższonym stężeniem PAL towarzyszy redukcja zdolności tych komórek do oddychania beztlenowego. Stosując odpowiednie sondy fluorescencyjne zaobserwowano, że ekspozycja komórek śródbłonka na wysokie stężenie kwasów tłuszczowych, jak już opisywano wcześniej w literaturze, doprowadza do zwiększonego poziomu mitochondrialnych i niemitochondrialnych reaktywnych form tlenu (RFT) i wpływa na potencjał błonowy mitochondriów. Białka związane z mitochondrialną obroną oksydacyjną tj. SOD2 i UCP2 były w większej ilości co stwierdzono za pomocą analizy Western blot i badania aktywności UCP2 w izolowanych mitochondriach. Jednym z bardziej intrygujących wyników jest obserwacja, że zmiany w poziomie mitochondrialnego anionorodnika ponadtlenkowego, ilości mitochondrialnych białek antyoksydacyjnych oraz potencjału błonowego są większe w przypadku komórek traktowanych niższym stężeniem PAL, niż w przypadku wyższego stężenia. Oznacza to, że niższe stężenie PAL wywołuje większy stres oksydacyjny niż wyższe. Ten nieoczekiwany wynik Doktorantka tłumaczy różnicą w mechanizmie śmierci wywołanej przez różne stężenia PAL. W opisie wyników często używane jest sformułowanie „wzrost produkcji reaktywnych form tlenu” np. str.49. Nie jest to ściśle określenie, bo mierzony jest stan równowagi pomiędzy produkcją a degradacją. We wstępie Doktorantka napisała, że „choć może się wydawać, że komórki śródbłonka mogłyby pobierać potrzebne kwasy tłuszczowe z krwiobiegu, prowadzą one ich syntezę *de novo*” (str.21). W świetle tego sformułowania w jaki sposób podwyższony poziom kwasów tłuszczowych w krwiobiegu mógłby zaburzać system oksydacyjnej fosforylacji?

Jak już wspomniano powyżej druga część pracy doktorskiej opisuje wpływ statyn na mitochondria. Zastosowane w niej podobne podejścia eksperymentalne jak w pierwszej części. Badano dwie statyny: hydrofobową atorwastatynę (ATOR) i hydrofilową prawastatynę (PRAW). W badaniach wpływu bezpośredniego statyn na izolowane mitochondria zmiany zauważono tylko dla hydrofobowej cząsteczki i były one podobne do skutków działania statyn hydrofobowych na mitochondria z innych tkanek. Zaobserwowano wzrost poziomu mitochondrialnych reaktywnych form tlenu, zahamowanie działania łańcucha oddechowego, spadek potencjału błonowego. Wyniki Doktorantki wskazują, że ATOR wywołuje nieprawidłowości w funkcjonowaniu mitochondrialnych kompleksów I i III, ale nie IV. Jakie mogą być podstawy molekularne tej specyficzności? Dodatkowo przy wysokich stężeniach ATOR obserwowano uszkodzenie zewnętrznej błony mitochondrialnej, które zwykle towarzyszy śmierci komórki. Należy jednak dodać, że zastosowane w pracy stężenia ATOR znacząco przekraczają te oznaczane w surowicy pacjentów poddawanych terapii z zastosowaniem statyn. Stosowane w badaniach statyny są podawane jako sól wapniowa. W związku z tym Doktorantka sprawdziła, czy obserwowane zmiany w funkcjonowaniu systemu oksydacyjnej fosforylacji pod wpływem statyn nie są przynajmniej częściowo związane z zaburzeniem mitochondrialnej homeostazy wapniowej. Są to pierwsze i istotne badania w tym kierunku, które

Podsumowując, przeprowadzone przez doktorantkę badania *in vitro* dostarczają nowatorskich i cennych informacji o możliwym wpływie dwóch substancji ważnych z punktu widzenia zdrowia człowieka na mitochondria śródbłonka i choć uzyskane wyniki, jak ocenia sama doktorantka, „należy ostrożnie odnosić do warunków *in vivo*” są one niewątpliwie solidną bazą dalszych aplikacyjnych badań w tym kierunku. Chciałabym w tym miejscu dodać, że mgr Izabela Broniarek jest współautorem siedmiu publikacji, w których trzy są bezpośrednio związane z pracą doktorską. Dwie prace są eksperymentalne i opisują większość wyników przedstawionych w pracy doktorskiej. Zostały one opublikowane w dobrych czasopismach specjalistycznych: Archives of Biochemistry and Biophysics i Pflügers Archiv -European Journal of Physiology. Trzecia publikacja to praca przeglądowa opublikowana w Postęпах Biochemii. W publikacjach, w których przedstawiono wyniki badań ujęte w pracy doktorskiej Doktorantka jest pierwszym autorem (spośród 2-3 autorów). Jestem pewna, że wyniki badań mgr Izabeli Broniarek wzbudzą duże zainteresowanie w gronie specjalistów, a opublikowane prace uzyskają dużą liczbę cytowań.

Biorąc pod uwagę wszystko co napisałam powyżej, uważam, że oceniana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach w zakresie sztuki (Dz.U.nr 65, poz.595 z późn.zm.). Zwracam się zatem do Rady Naukowej Wydziału Biologii UAM o dopuszczenie Pani mgr Izabeli Broniarek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto ze względu na wysoką wartość merytoryczną i znaczenie badań przeprowadzonych przez mgr Izabelę Broniarek, zwłaszcza nowatorskich badań dotyczących wpływu statyn, popularnych leków obniżających poziom cholesterolu, na metabolizm tlenowy ludzkich komórek śródbłonka wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej rozprawy stosowną nagrodą.



Prof. dr hab. Hanna Jańska