

Prof. dr hab. Magdalena Gabig-Cimińska  
Pracownia Molekularnych i Komórkowych Podstaw Strategii Nutraceutycznych  
Katedra Biologii i Genetyki Medycznej  
Wydział Biologii  
Uniwersytet Gdański  
ul. Wita Stwosza 59  
80-308 Gdańsk

tel. +48 58 5236046  
fax: +48 58 5236025  
e-mail: [magdalena.gabig-ciminska@ug.edu.pl](mailto:magdalena.gabig-ciminska@ug.edu.pl)

Gdańsk, 9 września 2024 r.

### **Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Alicji Małgorzaty Braczko pt.**

„Zmiany w metabolizmie energetycznym komórek serca towarzyszące miażdżycy”  
wykonanej w Katedrze i Zakładzie Biochemii, Wydziału Lekarskiego, Gdańskiego  
Uniwersytetu Medycznego, pod kierunkiem prof. dr hab. Ryszarda Tomasza  
Smoleńskiego (promotor) oraz dr hab. Barbary Kutryb-Zajac (promotor pomocniczy).

Dysertacja koncentruje się na badaniu zmian w przemianach energetycznych  
komórek serca, które towarzyszą miażdżycy. Jest ona dogłębną analizą wpływu  
dyslipidemii oraz terapii hipolipemizujących, takich jak statyny i inhibitory PCSK9, na  
funkcjonowanie mitochondriów, biogenezę komórkową oraz metabolizm nukleotydów  
w sercach myszy i komórkach śródbłonna ludzkiego. Celem badań było lepsze  
zrozumienie mechanizmów bioenergetycznych, które mogą wpłynąć na  
optymalizację strategii terapeutycznych w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych.

Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej Pani mgr Braczko zrealizowano w  
ramach 3 projektów finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (OPUS  
2016/23/B/NZ4/03877; HARMONIA 2016/22/M/NZ4/00678; SONATA  
2019/35/D/NZ3/0351), 1 zadania badawczego dla młodych naukowców  
finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MN-01-  
0352/08/256) oraz 1 grantu finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i  
Rozwoju, współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Programu  
Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020 (POWR.03.05.00-00-z082/18).  
Należy podkreślić, że Doktorantka podjęła się ambitnego i wymagającego zadania,  
ze względu na ograniczoną dostępność informacji dotyczących wpływu dyslipidemii  
oraz nowoczesnych terapii hipolipemizujących na metabolizm energetyczny komórek  
serca. Takie badania są niezbędne, by w pełni zrozumieć złożone mechanizmy  
bioenergetyczne, które pozostają słabo poznane w kontekście miażdżycy i leczenia  
chorób sercowo-naczyniowych. Zasługuje to na podkreślenie, ponieważ Doktorantka  
musiała najpewniej zmierzyć się z licznymi trudnościami już na etapie planowania  
koncepcji badań, zwłaszcza w kontekście pracy laboratoryjnej, ze względu na  
ograniczoną dostępność danych. Z jednej strony, wymagało to od niej wyjątkowej  
staranności i kreatywności w projektowaniu eksperymentów, z drugiej zaś, dzięki  
podjęciu tego wyzwania, powstała praca innowacyjna, której wyniki mają znaczenie  
nie tylko poznawcze, ale także praktyczne.

### **Ocena formalna**

Rozprawa doktorska Pani mgr Braczko stanowi zbiór 3 artykułów naukowych  
opublikowanych w recenzowanych czasopismach w latach 2022-2023. Wszystkie  
publikacje prezentują oryginalne wyniki eksperymentalne i są to następujące prace:



1. **Braczko A.**, Kutryb-Zajac B., Jedrzejewska A., Krol O., Mierzejewska P., Zabielska-Kaczorowska M., Slominska E.M., Smolenski R.T. „Cardiac mitochondria dysfunction in dyslipidemic mice” *International Journal of Molecular Sciences* 2022, 23, 1–17 (IF = 5.6; MNiSW = 140; Q1).
2. Kutryb-Zajac B., Kawecka A., **Braczko A.**, Franczak M., Slominska E. M., Giovannoni R., Smolenski R. T. „CoCl<sub>2</sub>-mimicked endothelial cell hypoxia induces nucleotide depletion and functional impairment that is reversed by nucleotide precursors” *Biomedicines* 2022, 10, 1–19 (IF= 4.7; MNiSW = 100; Q1).
3. **Braczko A.**, Harasim G., Kawecka A., Walczak I., Kapusta M., Narajczyk M., Stawarska K., Smolenski R.T., Kutryb-Zajac B. „Blocking cholesterol formation and turnover improves cellular and mitochondria function in murine heart microvascular endothelial cells and cardiomyocytes” *Frontiers in Physiology* 2023, 14, 1216267 (IF= 4.0; MNiSW = 100; Q2).

Łączna wartość współczynnika oddziaływania (IF) prezentowanych prac wynosi 14.3, podczas gdy łączna punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) prezentowanych prac równa stanowi 340.

Jak wspomniano powyżej, dysertacja stanowi zbiór trzech publikacji naukowych, prezentujących oryginalne wyniki badań. Rozprawa doktorska Pani mgr Braczko ma układ przyjęty dla opracowań z zakresu nauk medycznych. Od strony redakcyjnej praca przedstawia się bardzo dobrze. Praca całościowo została rzetelnie przygotowana i stanowi przyjemną dla czytelnika lekturę. Napisana jest językiem naukowym, a struktura pracy jest klarowna i zgodna z normami akademickimi, co ułatwia przyswajanie treści. Przedstawiona jest zasadniczo w języku polskim, a wyjątek stanowią materiały w języku angielskim, tj. jednostronicowe Streszczenie, zamieszone zgodnie z wymogiem, a także publikacje. Praca posiada stronę tytułową, spis treści, wyjaśnienia skrótów, streszczenia, wprowadzenie do tematyki rozprawy doktorskiej, opis celów badawczych, materiały i metody, najważniejsze wyniki oraz ich krytyczną dyskusję wraz z podsumowaniem i stosownym piśmiennictwem. Do rozprawy dołączono pełne teksty publikacji, które stanowią podstawę do ubiegania się o nadanie stopnia doktora. Do dokumentacji dołączono z kolei podpisane oświadczenia z opisem charakteru udziału poszczególnych współautorów w publikacjach, co dodatkowo potwierdza wiodącą rolę Doktorantki.

Wprowadzenie do rozprawy doktorskiej Pani mgr Braczko stanowi szeroko zakrojony i szczegółowy opis populacji komórkowych serca i ich funkcji metabolicznych, co jest istotne dla zrozumienia kontekstu miażdżycy, głównego tematu rozprawy. Autorka skutecznie korzysta z aktualnych źródeł naukowych, co świadczy o solidnym przygotowaniu teoretycznym i umiejętności analizy literatury. Struktura wprowadzenia jest logicznie uporządkowana, co ułatwia przyswajanie informacji i wprowadza czytelnika w skomplikowaną tematykę funkcjonowania serca na poziomie komórkowym. W tym miejscu brakuje jednak wyraźnie zdefiniowanej hipotezy badawczej, co jest znaczącym niedociągnięciem. Zdefiniowanie jasnej hipotezy na wstępie pracy pozwoliłoby czytelnikowi lepiej zrozumieć, jakie są główne cele badawcze pracy oraz jakie pytania naukowe mają zostać rozwiązane, jak poszczególne badania łączą się w jeden spójny projekt badawczy. Hipoteza mogłaby zatem stanowić ważny element strukturalny, wiążąc teorię z praktyką eksperymentalną. Z tego też względu byłoby bardzo pomocne, gdyby Doktorantka mogła przedstawić i omówić tę hipotezę w trakcie obrony doktorskiej. Chociaż Wprowadzenie zawiera obszerne informacje o różnorodnych funkcjach komórek serca, brakuje głębszego omówienia molekularnych mechanizmów regulujących te procesy, zwłaszcza w kontekście patofizjologii miażdżycy. Rozszerzenie tej sekcji o





molekularne ścieżki sygnałowe i mechanizmy odpowiedzialne za zmiany w funkcjonowaniu komórek serca pod wpływem miażdżycy mogłoby znacznie wzbogacić wartość teoretyczną pracy. Wprowadzenie mogłoby również korzystać z bardziej wyraźnego podkreślenia nowości naukowych i luki badawczej, które praca ma wypełnić. Taka strategia pozwoliłaby na lepsze ustawienie pracy w kontekście aktualnego stanu wiedzy i podkreślenie unikalnego wkładu badawczego Pani mgr Braczko.

Założenia i cele badań są jasno sprecyzowane i opisane w postaci 3 punktów. Jak się dowiadujemy, celem głównym przedstawionej pracy doktorskiej jest ocena wpływu aterosogennej dyslipidemii oraz terapii hipolipemizujących na metabolizm energetyczny komórek serca. Praca została precyzyjnie strukturyzowana na trzy szczegółowe obszary badawcze, które solidnie fundamentują zrozumienie prowadzonych badań, zapewniając klarowność i ułatwiając czytelnikowi śledzenie postępów badań oraz analizę wyników. Każdy z celów jest opisany i bezpośrednio powiązany z konkretną publikacją. Cele te są logicznie uporządkowane, zaczynając od analizy wpływu dyslipidemii na funkcję mitochondriów i inne parametry serca myszy, przez ocenę wpływu hipoksji na komórki śródbłonka ludzkiego, a kończąc na badaniu wpływu leków na komórki myszy. Taka sekwencja umożliwia systematyczne rozpatrywanie każdego aspektu problemu badawczego, co sprzyja zrozumieniu złożonych mechanizmów biologicznych.

Rozdział 5 opisuje najważniejsze wyniki badań. Pierwsza publikacja, opublikowana w *International Journal of Molecular Sciences* w 2022 roku, koncentruje się na dysfunkcjach mitochondrialnych w sercach myszy z dyslipidemią. Autorka przeprowadziła szczegółową analizę funkcji mitochondrialnych za pomocą analizatora Seahorse, co pozwoliło na precyzyjną ocenę zmian w metabolizmie energetycznym. W pracy wykazano, że dyslipidemia prowadzi do istotnych zmian w funkcjonowaniu mitochondriów, co sugeruje, że są one kluczowym elementem w patofizjologii miażdżycy. Ponieważ warto byłoby rozważyć, jakie inne czynniki mogą wpływać na dysfunkcję mitochondrialną w stosowanym modelu eksperymentalnym, co mogłoby wzbogacić interpretację wyników, stąd moja prośba o taką refleksję podczas obrony doktorskiej. Druga publikacja, zamieszczona w *Biomedicines* w 2022 roku, bada wpływ hipoksji na komórki śródbłonka mikronaczyń serca w kontekście dysfunkcji mitochondrialnych. W pracy tej Pani mgr Braczko zastosowała podobne techniki jak w pierwszej publikacji, co pozwoliło na konsekwentne rozszerzenie badań nad metabolizmem serca. Wykazano, że hipoksja nasila dysfunkcje mitochondrialne, co pogarsza stan komórek śródbłonka, istotnych w patogenezie miażdżycy. W tym miejscu zwracam się z prośbą do Doktorantki o bardziej szczegółowe omówienie podczas obrony, jak wyniki badań dotyczących hipoksji mogą wpłynąć na terapię miażdżycy. Trzecia publikacja, zaakceptowana do druku w *Frontiers in Physiology* w 2023 roku, bada efekty terapii hipolipemizujących (atorwastatyny i inhibitorów PCSK9) na metabolizm komórek serca oraz śródbłonka w warunkach dyslipidemii i hipoksji. Wyniki tego badania są kluczowe, ponieważ odnoszą się bezpośrednio do możliwych interwencji terapeutycznych. Autorka wykazała, że atorwastatyna oraz inhibitory PCSK9 różnie wpływają na funkcje mitochondrialne, co może mieć istotne implikacje kliniczne. W tym miejscu z kolei proszę Doktorantkę o refleksję naukową dot. analizy mechanizmów leżących u podstaw tych różnic. Wszystkie trzy opisy zaprezentowanych publikacji zawierają wnioski, które są niezwykle cenne dla dalszych badań i mogą stanowić podstawę do rozwoju wiedzy w dziedzinie medycyny sercowo-naczyniowej. Artykuły łączą się w logiczny ciąg badawczy, od podstawowych badań nad dysfunkcją mitochondrialną,



przez analizy adaptacyjnych odpowiedzi komórek na stres środowiskowy, aż po ocenę terapeutycznych interwencji. Wreszcie, w odniesieniu do całości dysertacji, proszę Doktorantkę o wyjaśnienie potencjalnego wpływu technik eksperymentalnych na uzyskane wyniki. W szczególności, zastosowanie analizatora Seahorse w obu badaniach nad mitochondriami budzi pytania o możliwe artefakty wynikające z tego podejścia.

Podsumowanie zaprezentowane w rozprawie doktorskiej rzetelnie podkreśla wyniki badań dotyczące wpływu aterogennej dyslipidemii i terapii hipolipemizujących na metabolizm energetyczny komórek serca. Przedstawione dane wskazują, że mitochondria izolowane z serc myszy z niedoborem receptora LDL charakteryzują się obniżonym poziomem oddychania mitochondrialnego, co jest szczególnie widoczne na poziomie I kompleksu łańcucha transportu elektronów. Dodatkowo, obniżona aktywność syntazy cytrynianowej w sercach tych myszy może wskazywać na redukcję liczby mitochondriów. Istotne są również obserwacje dotyczące zmian w procesach biogenezy i dynamiki mitochondriów pod wpływem hiperlipidemii, które korelują z obniżoną pulą nukleotydów adeninowych i stanem zapalnym zarówno lokalnym, jak i systemowym, co jednak nie wpływa negatywnie na mechaniczną funkcję serca myszy. Interesujące są również wyniki dotyczące komórek śródbłonna ludzkiego, które w warunkach imitujących hipoksję charakteryzują się znacznym spadkiem potencjału błony mitochondrialnej i obniżeniem wewnątrzkomórkowego stężenia ATP. Wprowadzenie inhibitora PCSK9 i atorwastatyny miało różny wpływ na mitochondria tych komórek, sugerując różnice w mechanizmach działania tych leków, co odzwierciedla się w różnicach w morfologii mitochondriów oraz w bioenergetyce komórkowej. Czy wiadomo może, jakie są perspektywy dalszych badań?

Reasumując, rozprawa jest solidnym i wartościowym wkładem w dziedzinę badań nad metabolizmem komórek serca oraz miażdżycą. Umiejętne zaplanowanie badań i konsekwentne ich zrealizowanie dostarczyło szeregu oryginalnych wyników istotnych pod względem poznawczym oraz potencjalnie aplikacyjnym. Zdobycie nowej wiedzy w omawianym zakresie staje się podstawą do opracowania nowych strategii leczenia, w tym pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi. Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka prawidłowo sformułowała wnioski oceniające istotę prowadzonych badań. Uważam temat rozprawy doktorskiej za wybrany trafnie, a przedstawione zagadnienia dotyczące zjawiska jako ważne, aktualne naukowo i interesujące. Oceniana praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, co pozwala stwierdzić, iż spełnione zostały warunki określone wspomnianą uprzednio ustawą, tj. Art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r., poz. 742). Biorąc powyższe pod uwagę, wnoszę do Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pani mgr Alicji Braczko do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych.

Prof. dr hab. Magdalena Gabig-Cimińska

