



**Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk**

Kraków 24.01.2022

**Prof. dr hab. n. med. Joanna Mika
Zakład Farmakologii Bólu
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk**

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. med. Huberta Zatorskiego

zatytułowanej

„Potencjał terapeutyczny hormonów inkretynowych oraz hormonów tkanki tłuszczowej w procesach zapalnych przewodu pokarmowego”

Przedstawiona do oceny praca doktorska lek. med. Huberta Zatorskiego wykonana pod kierunkiem Promotora prof. dr hab. n. med. Jakuba Fichny oraz Promotora pomocniczego dr hab. n. med. Macieja Sałagi bardzo dobrze wpisuje się w tematykę badawczą Zakładu Biochemii, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zarówno nieswoiste choroby zapalne jelit, jak i choroba wrzodowa żołądka to grupy wieloczynnikowych schorzeń przewodu pokarmowego o wciąż nie do końca poznanych mechanizmach rozwoju. W ostatnich latach niestety obserwuje się znaczący wzrost ilości pacjentów borykających się z tymi schorzeniami, a dostępne leki są niezadowolające, ze względu na ich słabą efektywność, a także skutki niepożądane. Dlatego też nadal poszukuje się nowych punktów uchwytu dla skutecznej farmakoterapii. Dane ostatnich lat sugerują, że ważną rolę w rozwoju tych patologii układu pokarmowego odgrywają hormony inkretynowe, które odpowiadają między innymi za stymulację wydzielania insuliny przez komórki trzustki, a także za tempo opróżniania żołądka. Takim ważnym hormonem tej grupy jest glukagonopodobny peptyd 1,

o czym świadczą badania przeprowadzone na myszach pozbawionych receptora dla glukagonopodobnego peptydu 1. Ponadto dane literaturowe sugerują, że hormony tkanki tłuszczowej również wpływają na rozwój i przebieg chorób przewodu pokarmowego. Jednym z takich hormonów jest adiponektyna, budząca ostatnio duże zainteresowanie ze względu na jej właściwości przeciwzapalne. W świetle powyższych danych, tematyka przedstawionej do oceny pracy doktorskiej wydaje się bardzo trafna.

Celem rozprawy doktorskiej było scharakteryzowanie roli wybranych hormonów inkretynowych oraz tkanki tłuszczowej w chorobach zapalnych przewodu pokarmowego. Zagadnienie to wpisuje się w aktualny zakres badań i co niezwykle istotne przekłada się na bieżące zastosowanie wyników w codziennej praktyce. Cykl prac stanowiący podstawę postępowania doktorskiego, składa się z 3 publikacji (1 przeglądowej oraz 2 oryginalnych). Doktorant przedstawił oświadczenia współautorów świadczące o jego znaczącym udziale w przygotowaniu publikacji będących podstawą niniejszej rozprawy doktorskiej. Ponadto, wszystkie eksperymenty zostały wykonane po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach (64/ŁB03/2015, 23/ŁB170/2020) i Komisji Bioetyki ds. Badań na Ludziach (RNN/276/15/KE).

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska składa się z typowych rozdziałów takich jak: streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, wprowadzenie, założenia i cele badawcze, materiały i metody, publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej, wyniki i dyskusja, oraz wnioski. W kolejnych rozdziałach przedstawiono źródła finansowania badań, spis bibliografii oraz uzyskane zgody od Komisji Etycznej i Bioetycznej, a także oświadczenia współautorów. Logiczny układ pracy doktorskiej, poprawny styl, właściwe cytowanie literatury, a także dyskusja wyników prezentowanych w 2 pracach oryginalnych wskazuje na dobrze opanowaną przez Doktoranta umiejętność pracy naukowej.

W pierwszym rozdziale, czyli we Wprowadzeniu, Doktorant w sposób klarowny omawia w pierwszej części nieswoiste choroby zapalne jelit, ze szczególnym uwzględnieniem danych epidemiologicznych, ich patogenyzy i możliwości leczenia. Następnie dokonuje wnikliwego przeglądu literaturowego i opisuje hormony inkretynowe, jako potencjalne cele farmakologiczne w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. W trzeciej części w sposób syntetyczny prezentuje najistotniejsze dane dotyczące choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy, ze szczególnym uwzględnieniem danych epidemiologicznych oraz możliwości

terapii. W ostatnim fragmencie tego rozdziału Doktorant wskazuje na hormony tkanki tłuszczowej, jako potencjalne cele farmakologiczne w chorobie wrzodowej żołądka i dwunastnicy.

W rozdziale drugim Doktorant przedstawia główne założenia pracy oraz szczegółowe - ambitne - cele. Wskazuje, że nadrzędnym celem przeprowadzanych eksperymentów było po pierwsze określenie wpływu stanu zapalnego na poziom glukagonopodobnego peptydu 1 oraz enzymów biorących udział w jego powstawaniu i degradacji w mysim modelu zapalenia jelita grubego oraz u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna; a po drugie zbadania wpływu aktywacji receptorów dla adiponektyny na powierzchnię owrzodzeń oraz rozwój stanu zapalnego w mysich modelach choroby wrzodowej żołądka.

W rozdziale trzecim Doktorant zawarł najważniejsze bardzo pomocne informacje dotyczące badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych, a także w materiale ludzkim. Opisał również pokrótce licznie zastosowane w publikacjach oznaczenia molekularne oraz biochemiczne, a także sposób przeprowadzenia analizy statystycznej.

W rozdziale czwartym Doktorant zamieścił prace będące podstawą jego rozprawy doktorskiej, co istotne we wszystkich jest on jest pierwszym autorem. Ukazały się one w renomowanych czasopiśmie. W pierwszej kolejności w 2019 roku powstała praca przeglądowa, która została opublikowana w czasopiśmie Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology ($IF=2,050$, $MEiN=70$ pkt.). Następnie w 2021 roku zostały opublikowane dwie prace oryginalne w Pharmacological Reports ($IF=3,024$, $MEiN=70$ pkt.) oraz Molecules ($IF=4,411$, $MEiN=100$ pkt.). Sumaryczny Impact Factor z tych wyżej wymienionych prac wynosi 9,485, a łączna ilość punktów Ministerstwa Edukacji i Nauki wynosi 240. W rozdziale piątym Doktorant sumiennie i logicznie pokrótce omawia, interpretuje i dyskutuje opublikowane w tych pracach oryginalnych rezultaty przeprowadzonych badań.

Jako pierwsza została opublikowana praca przeglądowa pt. *„Role of glucagon-like peptides in inflammatory bowel diseases – current knowledge and future perspectives”*, co wymagało od Doktoranta solidnego zgłębienia tematyki badawczej i niewątpliwie pozytywnie wpłynęło na plany eksperymentalne zrealizowane w dwóch kolejnych już oryginalnych pracach. W pracy przeglądowej przedstawił bowiem bardzo dobrze opracowane najnowsze dane literaturowe dotyczące roli glukagonopodobnych peptydów, ze szczególnym uwzględnieniem chorób zapalnych jelit, a także w sposób klarowny opisał prawdopodobne

mechanizmy ich działania. Uwagę zwraca bardzo szczegółowo opracowana Tabela 1 stanowiąca kompendium wiedzy na temat analogów glukagonopodobnych peptydów oraz ważnych dla ich działania inhibitorów enzymu dipeptydylopeptydazy IV. Ponadto, bardzo starannie opracowana Fig. 2 wskazuje na glukagonopodobne peptydy, jako potencjalne cele dla farmakologicznej strategii w leczeniu chorób zapalnych jelit. Stało się to podstawą do rozpoczęcia badań, które zostały następnie opublikowane w pracy oryginalnej pt. „*Colonic inflammation induces changes in glucose levels through modulation of incretin system*”, ukazującej w materiale zwierzęcym i ludzkim wpływ stanu zapalnego jelit na gospodarkę węglowodanową organizmu poprzez oddziaływanie na glukagonopodobny peptyd 1. W badaniach użyty został model stanu zapalnego jelit wywołanego przez podanie kwasu trinitrobenzoesowego. W swoich eksperymentach Doktorant wykazał, że u myszy w tym modelu poziom glukagonopodobnego peptydu 1 jest obniżony w surowicy i tkankach jelita grubego. Co ważne również jego poziom był obniżony w surowicy pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna w porównaniu do osób zdrowych, natomiast w bioptatach pobranych z jelita grubego był podwyższony. Dalsze analizy wykazały, że w surowicy i bioptatach z jelita grubego pacjentów poziom enzymu dipeptydylopeptydazy IV jest jednak niezmienny. Badania zakończyły się ważnym wnioskiem wskazującym, że w organizmie ludzkim występują dodatkowe czynniki warunkujące poziom glukagonopodobnego peptydu 1, jednakże ich poznanie wymaga dalszych eksperymentów. Ponadto, w dyskusji tej pracy bazując na danych literaturowych Doktorant podkreślał ścisły związek pomiędzy glukagonopodobnym peptydem 1, a zmianami w poziomach prozapalnych cytokin. Wykazał podniesiony poziom TNF α i IL-1 β . Nasuwa się pytanie, czy kontynuacja badań uwzględnia określenie zmian w słabo do tej pory zbadanej grupie cytokin jaką stanowią chemokiny. W świetle uzyskanych wyników, byłyby one bardzo cenne w mojej opinii. Zaprezentowane rezultaty są niezwykle interesujące zarówno pod kątem poznawczym, jaki i klinicznym, dlatego ciekawa jestem, jakie są dalsze plany eksperymentalne Doktoranta.

W kolejnej oryginalnej pracy pt. „*AdipoRon, an orally active, synthetic agonist of AdipoR1 and AdipoR2 receptors has gastroprotective effect in experimentally induced gastric ulcers in mice*” Doktorant opublikował bardzo ciekawe wyniki dotyczące roli receptorów dla adiponektyny typu 1 i 2 w chorobie wrzodowej żołądka. W eksperymentach zostały użyte dwa mysie modele choroby wrzodowej żołądka indukowane przez etanol oraz diklofenak.

Co ważne po raz pierwszy wykazał, że podanie agonisty receptorów dla adiponektyny AdipoRonu zmniejsza powierzchnię i liczbę owrzodzeń w mysich żołądkach niezależnie od stosowanego modelu choroby wrzodowej. Ponadto, ten agonista wykazuje również działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne poprzez zmniejszenie aktywności mieloperoksydazy oraz ekspresji prozapalnej IL-1beta w tkankach żołądka. W kolejnych badaniach Doktorant dowiódł, że w działanie gastroprotekcyjne AdipoRonu zaangażowane są ścieżki sygnałowe zależne od kinazy białkowej zależnej od AMP. Uzyskane wyniki są nowatorskie - wskazują na ogromny potencjał aktywacji receptorów dla adiponektyny w leczeniu choroby wrzodowej żołądka.

Mimo bardzo dobrej pracy, Doktorant nie uniknął drobnych niefortunnych określeń np. "non-significant increase", czy „non-significantly decreased”, które jednak nie umniejszają wartości przedstawionej do recenzji pracy. Ponadto, w mojej opinii streszczenie pracy doktorskiej powinno lepiej odzwierciedlać jej największe niewątpliwe osiągnięcia.

Podsumowując, w niniejszej rozprawie doktorskiej z całą pewnością zaprezentowano przekonujące dowody na to, że wybrane zarówno hormony inkretynowe, jak i tkanki tłuszczowej odgrywają ważną rolę w procesach zapalnych przewodu pokarmowego. Z przyjemnością, zatem pragnę stwierdzić, że przedstawiona do recenzji praca autorstwa lek. med. Huberta Zatorskiego zatytułowana „*Potencjał terapeutyczny hormonów inkretynowych oraz hormonów tkanki tłuszczowej w procesach zapalnych przewodu pokarmowego*” spełnia określone ustawowo warunki stawiane rozprawie doktorskiej, dlatego mam zaszczyt wnosić do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. med. Huberta Zatorskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na istotną wartość merytoryczną pracy, której wyniki zostały opublikowane w renomowanych czasopismach o łącznym Impact Factor 9,485 składam wniosek o przyznanie Doktorantowi wyróżnienia.



Prof. dr hab. n. med. Joanna Mika