

Prof. dr hab.n.med. i n.o zdr. Marek Waługa
Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii
Wydział Nauk Medycznych w Katowicach
Śląski Uniwersytet Medyczny

Katowice, 17 stycznia 2022.

RECENZJA

rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarza Huberta Zatorskiego pt. „POTENCJAŁ TERAPEUTYCZNY HORMONÓW INKRETYNOWYCH ORAZ HORMONÓW TKANKI TŁUSZCZOWEJ W PROCESACH ZAPALNYCH PRZEWODU POKARMOWEGO”, którego promotorem jest prof. dr hab.n.med. Jakub Fichna, kierownik Zakładu Biochemii Międzywydziałowej Katedry Chemii i Biochemii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi a promotorem pomocniczym dr hab.n.med. Maciej Sałaga, profesor uczelni.

Nieswoiste choroby zapalne jelit (NChZJ) to jeden z głównych problemów współczesnej gastroenterologii. Zachorowalność i zapadalność na te choroby stale wzrasta, zwłaszcza w populacji krajów rozwiniętych. Ponieważ choroby te dotyczą najczęściej osób młodych, w wieku produkcyjnym (20-40 lat) dodatkowo powstaje problem ekonomiczny wynikający z absencji chorobowej, ograniczonej zdolności do pracy, a także świadczeń finansowych na rzecz tych osób ze strony systemów ochrony zdrowia. Wiedza na temat patogenezы NChZJ jest bardzo rozbudowana, zwłaszcza w ostatnich latach, mimo to ciągle niewystarczająca. Świadczą o tym m.in. liczne nowe metody terapii, wciąż jednak nie spełniające wszystkich oczekiwań. Oprócz tradycyjnych metod terapeutycznych z zastosowaniem 5-aminosalicyalanów, glikokortykosteroidów, leków immunosupresyjnych, znaczący postęp notuje się w terapii biologicznej. Mimo to, około 30% pacjentów nie odpowiada na leczenie biologiczne lub odpowiedź jest niezadowalająca, a u blisko połowy mimo początkowo dobrej odpowiedzi na leczenie, efekt ten stopniowo zanika. Dlatego bardzo pożądane jest poszukiwanie nowych opcji terapeutycznych.

Choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy (PUD) nie ma w obecnych czasach aż tak dużego znaczenia jak 30-40 lat temu, w związku ze spadkiem częstości infekcji *Helicobacter pylori* oraz stosowaniem dość skutecznych leków zarówno w terapii eradykacyjnej jak i w leczeniu samych wrzodów i stanów zapalnych. Z drugiej strony powszechność stosowania leków szkodliwych dla żołądka i dwunastnicy oraz niebezpieczeństwo groźnych powikłań w



różno-rodnych postaciach choroby wrzodowej sprawiają, że zagadnienie to jest ciągle bardzo aktualne.

Doktorant podjął się zbadania roli wybranych hormonów inkretynowych i hormonów tkanki tłuszczowej w NChZJ i w PUD. W szczególności skoncentrował się na wyjaśnieniu zależności pomiędzy poziomem glukagonopodobnego peptydu 1 (GLP-1) a nasileniem stanu zapalnego jelit oraz zaburzeniami gospodarki węglowodanowej w mysim modelu NChZJ. Dodatkowo Doktorant podjął się wyjaśnienia roli receptorów dla adiponektyny jako celu terapeutycznego w PUD używając mysich modeli tych chorób.

Rozprawa doktorska liczy 91 stron, ma typowy układ i składa się z następujących rozdziałów: 1. Wprowadzenie, 2. Założenie i Cele badawcze, 3. Materiały i metody, 4. Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej, następnie 5. Wyniki i dyskusja, 6. Wnioski, 7. Finansowanie, 8. Bibliografia, 9. Zgody lokalnej komisji etycznej ds. doświadczeń na zwierzętach oraz komisji bioetycznej, 10. Oświadczenia współautorów.

Cała rozprawa na początku jest opatrzona precyzyjnym spisem treści oraz streszczeniami w języku polskim i angielskim, a także wykazem skrótów.

Rozdział 1. **Wprowadzenie** jest podzielony na podrozdziały, w których Autor omawia w zwięzły sposób 1.1. Nieswoiste choroby zapalne jelit, uwzględniając szczególnie 1.1.1. Epidemiologię, 1.2.1. Patogenezę, i 1.2.2. Leczenie. Ciąg dalszy rozdziału głównego to 1.2. Hormony inkretynowe jako potencjalne cele farmakologiczne w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. W kolejnym podrozdziale 1.3. Choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy, Doktorant omawia 1.3.1. Epidemiologię, 1.3.2. Patogenezę i 1.3.3. Leczenie. Następny rozdział to 1.4 Hormony tkanki tłuszczowej jako potencjalne cele farmakologiczne w chorobie wrzodowej żołądka i dwunastnicy.

Podsumowując i oceniając tę wprowadzającą część pracy, należy stwierdzić, że w sposób wystarczający przedstawia ona podstawową wiedzę na tematy poruszane w pracy doktorskiej.

W rozdziale 2. **Założenia i cele badawcze** Doktorant przedstawia co było celem rozprawy, przedstawia zwięzłe cele badawcze i krótko uzasadnia je powołując się przy tym ogólnie na istniejące w literaturze doniesienia, choć słusznie w tym miejscu nie przytacza szczegółów.



Podsumowując tę część pracy należy podkreślić, że Autor prawidłowo pod względem naukowym zaplanował główne założenia i cele badawcze oraz sposoby przeprowadzenia eksperymentów.

W rozdziale **3. Materiał i metody** przedstawia 3.1. Badania w modelach zwierzęcych, w tym 3.1.2. Mysi model stanu zapalnego jelit wywołany przez TNBS, w podrozdziale 3.1.3 Ocena stanu zapalnego jelita grubego - opisuje metodykę, jaką w tym zakresie zastosował, następnie prezentuje 3.1.4. Mysie modele choroby wrzodowej żołądka indukowane etanolem i diklofenakiem, oraz 3.1.5. Ocenę stanu zapalnego żołądka, a na koniec tego podrozdziału przedstawia 3.1.6. Badane związki. Następnie Doktorant przechodzi do podrozdziału 3.2. Badania w materiale ludzkim, w tym 3.2.1. Rola układu inkretynowego w patogenezie i przebiegu ChLC. Kolejny podrozdział to 3.3. Oznaczenia biomolekularne z opisem poszczególnych technik: 3.3.1. Test immunoenzymatyczny ELISA, 3.3.2. Western blot i 3.3.3. Real-time RT-PCR. W rozdziale 3.4. Oznaczenia biochemiczne Autor tylko krótko wspomina, że oznaczenia aktywności poszczególnych badanych związków chemicznych były zgodne z zaleceniami producentów odczynników i protokołem obowiązującym w Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

W rozdziale 3.5. Analiza statystyczna Doktorant pisze, że używał do obliczeń programu GraphPad Prism 8.0 oraz przedstawia jakich testów statystycznych do tego celu używał.

Należy w tym miejscu mocno podkreślić, że rozprawa powstała na podstawie 3 bardzo dobrych publikacji opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej o wysokim współczynniku oddziaływania i wysokiej punktacji MEiN, przy czym w każdej z tych prac Doktorant jest pierwszym autorem. Publikacje te Doktorant wymienia, a następnie przedstawia w rozdziale 4. Są to: **1.** Role of glucagon – like peptides in inflammatory bowel diseases-current knowledge and future perspectives, praca pogładowa/przeglądowa opublikowana w *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, o IF= 2,050, MEiN=70 pkt wg przepisów z 2019r i 100 pkt wg przepisów z 2021.r, **2.** Colonic inflammation induced changes in glucose levels through modulation of incretin system, praca oryginalna opublikowana w *Pharmacol Rep.* o IF = 3,024, MEiN = 70 pkt (wg przepisów z 2021 r.) oraz **3.** AdipoRon, an orally active, synthetic agonist of AdipoR1 and AdipoR2 receptors has gastroprotective effect in experimentally induced gastric ulcers in mice - również praca oryginalna opublikowana w *Molecules*, posiadającym IF=4,411, i punktacji MEiN = 100 pkt.



W pracy 1. – review, Doktorant wskazuje, że choroby zapalne jelit (IBD) coraz częściej występują u ludzi w starszym wieku, obciążonych również innymi chorobami takimi jak choroby układu krążenia i cukrzyca, co wymaga bardziej złożonej terapii; ponadto część pacjentów nie odpowiada na dotychczasowe sposoby terapii, dlatego konieczne jest poszukiwanie nowych metod terapeutycznych. Glucacon-like-peptides (GLPs) posiadają wiele korzystnych właściwości takich jak obniżanie ciśnienia tętniczego, kontrolę masy ciała, hamowanie opróżniania żołądkowego, zmniejszają spożywanie pokarmów, zwiększają proliferację komórek jelitowych i właściwości absorpcyjne. Różne modele badawcze wskazują, że GLPs mogą prowadzić do poprawy w przebiegu zapalenia jelit. Doktorant wraz ze współautorami przedstawiają w tej pracy przegląd literatury na temat.

W pracy 2. – oryginalnej, Doktorant wraz ze współautorami badał, czy zapalenie jelita grubego w modelu zwierzęcym ma wpływ na poziom glukozy, GLP-1, dwupeptydylopeptydazy IV (DPP IV), prohormonu konwertazy 1/3 (PC 1/3) i ekspresję receptora GLP-1 (GLP-IR). Czynniki te, a dodatkowo poziom glukagonu Doktorant badał też u pacjentów z chorobą Crohna. W badaniach tych Doktorant wraz ze współautorami wykazał szereg zmian w zakresie parametrów układu inkretynowego w przebiegu zapalenia jelita, co upoważniło Go do wniosku, że uzyskane wyniki wskazują, iż system inkretynowy może stać się nową opcją terapeutyczną w leczeniu choroby Leśniowskiego-Crohna.

W pracy 3. – również oryginalnej celem było zbadanie czy aktywacja receptorów adiponektyny AdipoR1 i AdipoR2 przez podawanego doustnie agonistę (AdipoRon) ma efekt gastroprotekcyny oraz jakie są podłoża tych mechanizmów. Doktorant wraz z zespołem współautorów wykazał, że AdipoRon wywierał efekt przeciwzapalny przez redukcję aktywności mieloperoksydazy (MPO) oraz ekspresji interleukiny 1 β (IL – 1 β) w śluzówce żołądka. Ponadto AdipoRon wywierał działanie antyoksydacyjne, na co wskazywał wyższy poziom glutationu (GSH) oraz zwiększona aktywność dyzmutazy nadtlenkowej (SOD) i peroksydazy glutationu (GPX). Wyniki tej pracy upoważniły Doktoranta do wniosku, że aktywacja receptorów adiponektyny przez AdipoRon zmniejsza uszkodzenia żołądka i zwiększa odpowiedź komórkową na stres oksydacyjny. Autorzy na czele z Doktorantem słusznie stwierdzili, że aktywacja receptorów adiponektyny AdipoR1 i AdipoR2 może stanowić atrakcyjną strategię terapeutyczną w hamowaniu rozwoju wrzodów żołądka.

Fakt, że wyżej wymienione prace zostały opublikowane w wysoko punktowanych czasopismach z listy filadelfijskiej przemawia sam za siebie i formalnie zwalnia recenzenta z

obowiązku oceny w tym miejscu. Tym niemniej niżej podpisany chce wyrazić własne zdanie i podkreślić, że wszystkie trzy prace są na najwyższym poziomie naukowym. Praca przeglądowa stanowi znakomity i bardzo wartościowy przegląd literatury na interesujący Doktoranta temat, ze znakomicie wyciągniętymi wnioskami na podstawie przeanalizowanej literatury. Wnioski te stały się inspiracją do dalszych badań naukowych Doktoranta. Natomiast obie prace oryginalne miały bardzo ambitne i dobrze sprecyzowane cele badawcze, były znakomicie zaplanowane, konsekwentnie i przy użyciu bardzo adekwatnych metod wykonane i opracowane. Wnioski z obu prac są bardzo nowatorskie i interesujące, a przy tym oparte na solidnym materiale badawczym. Wszystkie trzy prace wnoszą istotny wkład w rozwój nauki.

Opierając się na wynikach tych prac Doktorant w rozdziale 5. Wyniki i dyskusja, krótko streszcza i podsumowuje to, co osiągnął w trzech wybitnych pracach składających się na cykl. Zwraca przy tym uwagę na najważniejsze osiągnięcia w tych pracach i krótko je omawia. Rozdział ten pokazuje bardzo dużą dojrzałość Autora, który celnie, a jednocześnie w sposób wyważony streszcza swoje dokonania w tym temacie.

Część merytoryczną rozprawy doktorskiej kończy rozdział 6. Wnioski, w którym Autor stwierdza, że układ inkretynowy oraz hormony tkanki tłuszczowej są warte rozważenia jako cele terapeutyczne w chorobach zapalnych przewodu pokarmowego i podkreśla, że podstawą tego stwierdzenia jest wykazanie znaczącej roli GLP-1 i receptorów dla adiponektyny w przebiegu i leczeniu zarówno choroby Leśniowskiego i Crohna jak również choroby wrzodowej. Słusznie zauważa, że opublikowane wyniki mogą przyczynić się do znacznego rozwoju badań nad rolą hormonów inkretynowych i tkanki tłuszczowej w patogenezie NChZJ oraz PUD i powstania nowych terapii. W rozdziale 7. Finansowanie wymienia źródła finansowania.

Rozdział 8. Bibliografia, przedstawia 34 najważniejsze zdaniem Doktoranta publikacje na ten temat. Analizując spis tych publikacji wydaje się, że Autor rozprawy doktorskiej dokonał słusznego wyboru. Należy przy tym podkreślić, że spisy publikacji w przytoczonych 3 głównych pracach składających się na cykl są znacznie obszerniejsze, co świadczy o tym, że Doktorant autentycznie dokonywał wyboru najważniejszych publikacji.

W kolejnym rozdziale – 9. Doktorant przedstawia zgody lokalnej komisji etycznej ds. doświadczeń na zwierzętach oraz komisji bioetycznej, a w kończącym rozprawę rozdziale 10. Oświadczenia współautorów.

Niżej podpisany recenzent nie znalazł w rozprawie żadnych poważniejszych uchybień. Tym niemniej z obowiązku recenzenta pragnę tylko zwrócić uwagę na zdanie „w przeszłości

najczęściej używanym lekiem był analog prostaglandyny, mizoprostol...". Otóż z punktu widzenia klinicysty wolałbym zamienić słowo „najczęściej” na „często”. Mizoprostol nigdy bowiem nie uzyskał miana głównego leku w chorobie wrzodowej ze względu na szybko odkryte liczne objawy uboczne, z tego też względu dość szybko osiągnął znaczenie marginalne. Chciałbym też zwrócić uwagę, że w niektórych przypadkach słowo „poziom” w odniesieniu do badanych czynników /substancji można zastąpić słowem „stężenie”. W toku rozprawy znalazłem jedynie bardzo nieliczne niedoskonałości interpunkcyjne.

Powyższe drobne uwagi wynikają z obowiązków recenzenta i w niczym nie umniejszają bardzo dużej wartości pracy oraz bardzo wysokiej oceny opinii niżej podpisanego recenzenta. Pracę należy uznać za niezwykle nowatorską, z bardzo dobrą i przemyślaną koncepcją i bardzo dobrze zaplanowanym przeprowadzeniem badań. Założone cele naukowe zostały osiągnięte w sposób niezwykle profesjonalny i konsekwentny, analiza uzyskanych wyników przeprowadzona wzorowo, a dyskusja świadczy o dużej dojrzałości naukowej. Po raz kolejny chcę podkreślić, że o bardzo wysokiej wartości pracy świadczy fakt opublikowania cyklu będącego bazą rozprawy doktorskiej w bardzo dobrych czasopismach o wysokiej punktacji.

Reasumując, zdaniem niżej podpisanego recenzenta rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13. ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tj. Dz.U. z 2017 r., poz. 1789). Dlatego zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarza Huberta Zatorskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, uprzejmie zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.

Z wyrazami szacunku

Prof. dr hab.n.med. i n. o zdr. Marek Waluga
Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii
Wydział Nauk Medycznych w Katowicach
Śląski Uniwersytet Medyczny

