

Prof. dr hab. Stanisław Okrasa
Katedra Anatomii i Fizjologii Zwierząt
Wydział Biologii i Biotechnologii
UWM w Olsztynie
10-718 OLSZTYN
ul. Oczapowskiego 1A

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Marty Wołosowicz
pt.: "Wpływ N-acetylocysteiny lub kwasu *alfa*-liponowego na ekspresję białkowych
transporterów kwasów tłuszczowych oraz metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej
w trzewnej i podskórnej tkance tłuszczowej szczurów
karmionych dietą bogatotłuszczową"**

OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Przedstawiona do oceny praca doktorska Pani mgr Marty Wołosowicz została wykonana w Zakładzie Fizjologii Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem prof. dr hab. n.med. Adriana Chabowskiego. Na rozprawę doktorską składają się trzy – niżej wyszczególnione – prace opublikowane w języku angielskim w czasopismach z listy JCR, których łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 11,818, a punktacja wg MEiN – 280.

1. **Wołosowicz M.**, Łukaszuk B., Chabowski A. The causes of insulin resistance in type 1 diabetes mellitus: is there a place for quaternary prevention? *Int. J. Environ. Res. Public Health*; **2020**, 17: 8651.
IF=3,390, MEiN=140
2. **Wołosowicz M.**, Dajnowicz-Brzezik P., Łukaszuk B., Żebrowska E., Maciejczyk M., Zalewska A., Kasacka I., Chabowski A. Diverse impact of N-acetylcysteine or alpha-lipoic acid supplementation during high-fat diet regime on fatty acid transporters in visceral and subcutaneous adipose tissue; *Adv. Med. Sci.*; **2022**, 67: 216-228.
IF=3,287, MEiN=100
3. **Wołosowicz M.**, Łukaszuk B., Kasacka I., Chabowski A. Diverse Impact of N-Acetylcysteine or Alpha-Lipoic Acid supplementation during high-fat diet regime on matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in visceral and subcutaneous adipose tissue *Cell Physiol. Biochem.*; **2022**, 56:166-179.
IF=5,141, MEiN=140

Dwie z wymienionych publikacji (2 i 3) są pracami oryginalnymi, a jedna (1) – pracą przeglądową. W publikacjach tych Doktorantka jest pierwszym i równocześnie korespondującym autorem. Jej wkład w przeprowadzenie badań i przygotowanie tych publikacji odpowiednio wynosił: 70%, 65% i 70%. Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej były finansowane w ramach grantów uczelnianych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, w których Doktorantka pełniła funkcję kierownika. Rozprawa doktorska mgr Marty Wołosowicz, oprócz kopii ww. publikacji, zawiera *Autoreferat*, obejmujący: dane dotyczące wykształcenia, wykazy publikacji i doniesień konferencyjnych, zrealizowanych projektów badawczych oraz odbytych staży naukowych i szkoleń dotyczących różnych aspektów pracy badawczej. Główna część rozprawy doktorskiej (strony: 16-34) zawiera *Wstęp* –

przedstawiający aktualny stan wiedzy w zakresie podjętego tematu badawczego, *Cele pracy* – dodatkowo uwzględniające opisowe przedstawione przyjętych założeń (hipotezy), *Materiały i metody* – przedstawiające zastosowane modele doświadczalne, procedury badawcze i wykonane analizy statystyczne, *Wyniki*, które opisano odnosząc się do rycin zamieszczonych w publikacjach oraz *Wnioski* – sformułowane na podstawie uzyskanych wyników. Ponadto, opracowanie zawiera *Streszczenia* w języku polskim i angielskim, *Spis treści*, *Wykaz stosowanych skrótów* oraz zestawienie cytowanego w *Autoreferacie* piśmiennictwa, jak również informacje o procentowym udziale współautorów w przeprowadzeniu badań i przygotowaniu poszczególnych publikacji oraz indywidualne oświadczenia współautorów dotyczące ich wkładu i wyrażające zgodę na wykorzystanie publikacji w postępowaniu o nadanie mgr Marcie Wołosowicz stopnia doktora.

Na podkreślenie zasługuje duże zaangażowanie Doktorantki w zdobywanie solidnego wykształcenia, które m.in. obejmowało równoległe studiowanie dwóch kierunków na poziomie licencjackim i magisterskim, *Fizjoterapia* oraz *Zdrowie Publiczne* na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku, a następnie kontynuowanie kształcenia na studiach podyplomowych o następujących profilach: 1/ *Zarządzanie i Finanse w Ochronie Zdrowia*, 2/ *Epidemiologia* oraz 3/ *Promocja Zdrowia i Edukacja Zdrowotna*, a także – w ramach programu *Master of Business Administration w Ochronie Zdrowia* (na Uniwersytecie Ekonomicznym we Wrocławiu). Doktorantka odbyła 3 staże naukowe w Stanach Zjednoczonych oraz uczestniczyła w licznych szkoleniach powiązanych z prowadzeniem badań naukowych. Oprócz czterech publikacji Kandydatki wymienionych w *Autoreferacie* (w tym 3 stanowiących rozprawę doktorską), w ostatnim czasie ukazała się Jej kolejna praca przeglądowa (*Medicina – Kaunas*; 2022, 58: 472).

MERYTORYCZNA ANALIZA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

U ludzi, nadwaga (BMI od 25 do 29,0) i otyłość (BMI od 30) stanowią poważny problem zdrowotny, szczególnie w krajach wysokorozwiniętych. Jak podaje Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), około 1 miliarda ludzi na świecie przekracza prawidłową masę ciała, a około 300 mln – cierpi na otyłość. Do rozwoju otyłości prowadzi długotrwały dodatni bilans energetyczny z czym związany jest znaczny przyrost masy tkanki tłuszczowej. Obecnie tkanka tłuszczowa jest postrzegana jako wielofunkcyjny narząd, który m.in. wykazuje znaczną aktywność wewnątrzwydzielniczą i w ten sposób wpływa na przebieg wielu procesów fizjologicznych. Z otyłością wiąże się szereg zmian strukturalnych i molekularnych, które zachodzą w tkance tłuszczowej i prowadzą do jej dysfunkcji. W konsekwencji, wiąże się to z występowaniem zaburzeń metabolicznych, m.in. takich jak; insulinoporność czy cukrzyca typu 2. Otyłość również w znacznym stopniu przyczynia się do rozwoju zaburzeń sercowo-naczyniowych, oddechowych, neurologicznych, żołądkowo-jelitowych, wątrobowych, endokrynnych, kostnych i nerkowych, a także do zwiększonej zachorowalności na nowotwory. Badania dotyczące różnych aspektów otyłości są bardzo ważne z medycznego punktu widzenia. Temat rozprawy doktorskiej mgr Marty Wołosowicz wpisuje się zatem w problematykę, której znaczenie jest nie do przecenienia.

We *Wstępie*, Doktorantka dokonuje wprowadzenia do pojętego tematu badań, opisując strukturę i funkcje tkanki tłuszczowej we współczesnym ujęciu oraz zmiany, którym ona podlega wskutek rozwoju otyłości. Podkreśla występowanie dwóch form białej tkanki tłuszczowej – tkanki trzewnej i podskórnej. Opisuje aktywność wewnątrzwydzielniczą tkanki tłuszczowej i konsekwencje akumulacji w niej lipidów oraz wyjaśnia przyczyny insulinoporności. Ze względu na podjęty temat pracy, Doktorantka zwraca szczególną uwagę: 1/ na białka odpowiedzialne za transport kwasów tłuszczowych (FA): tj. translokazę FA (FAT/CD36), białko

błonowe wiążące FA (FABPpm) oraz białka transportujące FA (FATP1 i FATP4), a także 2/ na metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMP2 i MMP9), które są odpowiedzialne za degradację kolagenu typu 4, będącego głównym składnikiem błony podstawnej naczyń krwionośnych. Zainteresowanie Doktorantki tymi metaloproteinazami jest w pełni uzasadnione, ponieważ pełnią one ważną rolę w adipogenezie i angiogenezie, jak również w przypadku nadmiernej aktywności mogą przyczynić się do zwiększonej migracji leukocytów w tkance tłuszczowej i nasilenia w jej obrębie stanu zapalnego, łącznie z negatywnymi jego konsekwencjami. Autorka również stwierdza, że rozwojowi otyłości towarzyszy wzrost produkcji reaktywnych form tlenu i wystąpienie stresu oksydacyjnego w komórkach, zakłócającego ich prawidłowe funkcjonowanie. Następnie, przedstawia antyoksydacyjne właściwości dwóch substancji, N-acetylocysteiny (NAC) i kwasu *alfa*-liponowego (ALA), które zostały wybrane do określenia ich potencjalnych możliwości przeciwdziałania skutkom otyłości indukowanej dietą bogatotłuszczową w badaniach przeprowadzonych na szczurach. Na wysoką ocenę zasługuje staranne opracowanie *Wstępu*, w którym zostały przystępnie i zwięźle wyjaśnione różne aspekty podjętych badań. Doktorantka wykazała się także gruntowną wiedzą z tego zakresu w pracy przeglądowej wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej (Wołosowicz i wsp., 2020) oraz w innej pracy przeglądowej, która ukazała się w ostatnim okresie (Wołosowicz i wsp., 2022).

W badaniach z wykorzystaniem modelu szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową, Doktorantka wyznaczyła realizację 4 podstawowych celów. Obejmują one m.in. ocenę wpływu N-acetylocysteiny i kwasu *alfa*-liponowego na:

- 1) wybrane parametry osocza (poziomy insuliny, glukozy, FFA, DAG i TAG);
- 2) histologię trzewnej i podskórnej tkanki tłuszczowej;
- 3) ekspresję (na poziomie mRNA i białka) transporterów kwasów tłuszczowych (FAT/CD36, FABPpm, FATP1 i FATP4) oraz następczą akumulację kwasów tłuszczowych w wybranych frakcjach lipidowych (FFA, DAG i TAG) w trzewnej i podskórnej tkance tłuszczowej;
- 4) ekspresję (na poziomie mRNA i białka) metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP2 i MMP9) w trzewnej i podskórnej tkance tłuszczowej.

Badania przeprowadzono na 4-tygodniowych samcach szczurów rasy Wistar karmionych dietą kontrolną (o zawartości tłuszczu 10,3%) lub bogatotłuszczową (o zawartości tłuszczu 59,8%) przez 10 tygodni, którym po upływie 6 tygodni dożyłdkowo podawano codziennie przez 4 tygodnie roztwór płynu fizjologicznego (w grupach kontrolnych) lub testowane antyoksydanty (NAC lub ALA; w grupach doświadczalnych). Badania laboratoryjne przeprowadzono na próbach brzusznej i podskórnej tkanki tłuszczowej oraz osocza krwi obwodowej. Procedury postępowania z badanymi zwierzętami były zatwierdzone przez odpowiednią Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach.

Oceniając metodykę wykonanych w ramach rozprawy doktorskiej badań, pragnę podkreślić i równocześnie docenić kompleksowe ujęcie podjętego problemu badawczego, tj. uwzględniające określanie zmian poziomów składników osocza (insuliny, glukozy, FFA, DAG i TAG) ściśle powiązanych z rozwojem otyłości oraz zmian histologicznych tkanki tłuszczowej związanych z tym procesem, jak również określanie ekspresji wybranych genów zarówno na poziomie mRNA, jak i białka. Równoczesne badanie zmian mRNA i białka w odpowiedzi na badane czynniki pozwala na wyciągnięcie bardziej adekwatnych wniosków na temat ich wpływu na dany proces, jakkolwiek w pełni nie wyjaśnia mechanizmów regulacyjnych odpowiedzialnych za jego kontrolę. Pozytywnie oceniam dokonany wybór

genów do przeprowadzonej analizy (FAT/CD36, FABPpm, FATP1 i FATP4 oraz MMP2 i MMP9), a także potwierdzam zasadność określania akumulacji kwasów tłuszczowych w trzewnej i podskórnej tkance tłuszczowej. Realizacja badań w takim zakresie wymagała wykorzystania szeregu technik laboratoryjnych, m.in. takich jak: Real-Time PCR, Western Blot, barwienia histologiczne i analizy immunocytochemiczne oraz chromatografia gazowo-cieczowa i cienkowarstwowa. W formie sugestii dodam, że zamieszczenie w *Autoreferacie* schematu zaplanowanych badań lepiej uwidoczniłoby ich przemyślaną konstrukcję i zakres.

Wyniki badań przeprowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej, Kandydatka przedstawiła w dwóch pracach oryginalnych, które ukazały się czasopismach naukowych posiadających wysokie współczynniki oddziaływania (IF=3,287 i 5,141) oraz opisała je w załączonym *Autoreferacie*. Generalnie, badane antyoksydanty wykazywały zróżnicowany wpływ na cechy fenotypowe tkanki tłuszczowej i oceniane parametry.

W badaniach przedstawionych w publikacji 2, u szczurów doświadczalnych m.in. stwierdzono:

- 1) wzrost masy ciała po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową), która uległa obniżeniu w wyniku stosowania suplementacji antyoksydantami;
- 2) wzrost wielkości adipocytów w trzewnej i podskórnej tkance tłuszczowej w przypadku stosowania diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową) oraz obniżenie jej w podskórnej tkance tłuszczowej po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem kwasu *alfa*-liponowego (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów);
- 3) wzrost liczby makrofagów w obu typach tkanki tłuszczowej po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z kwasem *alfa*-liponowego oraz w podskórnej tkance tłuszczowej po wpływie diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową);
- 4) obniżenie ekspresji mRNA FAT/CD36 i FABPpm w trzewnej tkance tłuszczowej pod wpływem diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową) oraz wzrost mRNA FABPpm, a obniżenie mRNA FATP1 w tej tkance – w odpowiedzi na dietę bogatotłuszczową w połączeniu z kwasem *alfa*-liponowym (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów), obniżenie mRNA FAT/CD36 w obu typach tkanki tłuszczowej po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z N-acetylocysteiną (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów), ponadto obniżenie ekspresji mRNA FATP1 w podskórnej tkance tłuszczowej po wpływie diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem N-acetylocysteiny, a wzrost – po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu ze stosowaniem kwasu *alfa*-liponowego (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów);
- 5) wzrost białka FABPpm, FATP1 i FATP4 w trzewnej tkance tłuszczowej w wyniku stosowania diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową) oraz dodatkowy wzrost FATP4 po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem N-acetylocysteiny, z kolei w podskórnej tkance tłuszczowej – wzrost FAT/CD36 w odpowiedzi na dietę bogatotłuszczową (w porównaniu z dietą standardową) oraz FATP4 po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z N-acetylocysteiną (w porównaniu z dietą standardową i bogatotłuszczową);
- 6) wzrost zawartości FFA, DAG i TAG w trzewnej tkance tłuszczowej oraz FFA w podskórnej tkance tłuszczowej w wyniku stosowania tylko diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową), natomiast obniżenie FFA, DAG i TAG w trzewnej tkance tłuszczowej oraz FFA i DAG w podskórnej tkance tłuszczowej po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem N-acetylocysteiny (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów).

W badaniach przedstawionych w publikacji 3, u szczurów doświadczalnych m.in. stwierdzono:

- 1) wzrost fosfolipidów w osoczu krwi pod wpływem diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową) oraz obniżenie – DAG i TAG po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem N-acetylocysteiny (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów);
- 2) wzrost wielkości adipocytów w obu typach tkanki tłuszczowej pod wpływem diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową), a obniżenie – po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem kwasu *alfa*-liponowego (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów);
- 3) wzrost liczby komórek CD68 w podskórnej tkance tłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową) oraz wzrost liczby tych komórek w trzewnej tkance tłuszczowej pod wpływem diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem N-acetylocysteiny (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów);
- 4) znaczne obniżenie ekspresji mRNA MMP9 w obu typach tkanki tłuszczowej po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem N-acetylocysteiny (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów) oraz wzrost w trzewnej tkance tłuszczowej pod wpływem samej diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową), natomiast brak istotnych zmian w ekspresji mRNA MMP2 pod wpływem zarówno diety bogatotłuszczowej, jak i diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem antyoksydantów;
- 5) wzrost zawartości białka MMP2 i MMP9 w trzewnej tkance tłuszczowej oraz MMP9 w podskórnej tkance tłuszczowej pod wpływem diety bogatotłuszczowej (w porównaniu z dietą standardową) oraz obniżenie MMP2 w trzewnej tkance tłuszczowej, a wzrost w podskórnej tkance tłuszczowej pod wpływem diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem odpowiednio – N-acetylocysteiny lub kwasu *alfa*-liponowego (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów), a także wzrost białka MMP9 w trzewnej tkance tłuszczowej po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem N-acetylocysteiny oraz obniżenie jej w obu typach tkanki tłuszczowej po zastosowaniu diety bogatotłuszczowej w połączeniu z podawaniem kwasu *alfa*-liponowego (w porównaniu z dietą bogatotłuszczową bez podawania antyoksydantów).

Przedstawione badania, przeprowadzone z wykorzystaniem zwierzęcego modelu doświadczalnego, dostarczyły wielu danych o potencjalnych efektach stosowania antyoksydantów w toku rozwijającej się otyłości wywołanej dietą bogatotłuszczową. Generalnie, uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań wskazują, że suplementacja z wykorzystaniem antyoksydantów może ograniczyć rozwój otyłości indukowanej dietą i złagodzić towarzyszące jej komplikacje. Ujawniają one także możliwość zróżnicowanego oddziaływania testowanych antyoksydantów na wybrane parametry biochemiczne osocza krwi, cechy fenotypowe tkanki tłuszczowej oraz jej zdolność do akumulacji lipidów, a także – na ekspresję w niej genów, kodujących białka ściśle powiązane z funkcjonowaniem tej tkanki, tj. białka odpowiedzialne za transport kwasów tłuszczowych oraz metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej. Badania również wykazały różnice pomiędzy reakcjami trzewnej i podskórnej tkanki tłuszczowej na stosowane antyoksydanty. Z powyższych powodów, przedstawione wyniki nie dają prostej i jednoznacznej odpowiedzi na temat skuteczności działania testowanych antyoksydantów w łagodzeniu niekorzystnych zmian wywołanych rozwojem otyłości. Potwierdzają one złożoność tego procesu i dostarczają cennych informacji przydatnych w planowaniu dalszych badań dotyczących problemu otyłości. Kolejną obserwacją wynikającą z badań Doktorantki, zgodną z wieloma wcześniejszymi doniesieniami, jest brak ścisłej korelacji pomiędzy stwierdzonymi poziomami mRNA i białka przez nie kodowanego.

W publikacjach (2 i 3), Doktorantka analizuje uzyskane wyniki w kontekście danych dostępnych w piśmiennictwie, próbując je powiązać m.in. z statusem metabolicznym adipocytów w warunkach długotrwałego dodatniego bilansu energetycznego, który naraża je na stres oksydacyjny i wzmoczoną produkcję reaktywnych form tlenu. W odniesieniu do zróżnicowanych efektów działania testowanych antyoksydantów zwraca uwagę na to, że mogą one wynikać z dawek tych substancji zastosowanych w badaniach oraz/lub z różnego stopnia/tempa ich wnikania do adipocytów. Powołując się na piśmiennictwo, Doktorantka wskazuje, że u podłoża różnic w odpowiedzi trzewnej i podskórnej tkanki tłuszczowej na antyoksydanty może być ich swoisty rozwój i właściwości metaboliczne. Wśród przyczyn rozbieżności wyników analizy ekspresji genów na poziomie mRNA i białka Autorka wymienia: złożone i jeszcze w pełni niepoznane mechanizmy regulujące procesy potranslacyjne, różne okresy półtrwania mRNA i białka oraz różnice w czułości metod analizy mRNA (Real-Time PCR, wyższa) i białka (Western Blot, niższa).

W zakończeniu *Autoreferatu*, Doktorantka zamieszcza 9 wniosków podsumowujących stwierdzone efekty działania N-acetylocysteiny oraz kwasu *alfa*-liponowego na badane parametry u szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową. Stwierdzenie w punkcie 9, dotyczące metaloproteinaz, należy przereklamować, aby było w pełni zgodne z danymi zamieszczonymi na rycinie 6 (publikacja 3) i uwzględniło zmiany w poszczególnych typach tkanki tłuszczowej. Sugerowałbym sformułować kilka ogólnych wniosków, i wówczas wnioski z *Autoreferatu* mogłyby stanowić posumowanie uzyskanych wyników badań.

UWAGI i PYTANIA

Podczas czytania *Autoreferatu* dotyczącego ocenianej rozprawy doktorskiej oraz załączonych publikacji nasunęło mi się kilka uwag/pytań, które przedstawiam poniżej.

1. W *Autoreferacie* i publikacjach nie znalazłem informacji o metodzie oznaczania insuliny. Czy używano zestawu RIA?
2. W *Autoreferacie* i publikacjach podano dwie różne Komisje Etyczne ds. Doświadczeń na Zwierzętach zamiast jednej, która faktycznie wyraziła zgodę na przeprowadzenie badań wykonywanych w ramach pracy doktorskiej.
3. W publikacji 2 opisano wpływ testowanych antyoksydantów na ekspresję mRNA oraz białka β -HAD, a kwestię tę pominięto w *Autoreferacie*.
4. Uwagi dotyczące publikacji (2 i 3).
 - W rozdziale *Results* (publikacja 3) cytowane są wyniki z wcześniejszej publikacji (oznakowanej numerem 21). One powinny być umieszczone w dyskusji.
 - Podpis pod Fig. 1 (publikacja 3) nie odpowiada w pełni zamieszczonym wykresom.
 - Jaka jest przyczyna różnicy masy ciała szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową (HFD) podanej w tabeli 2 (publikacja 2) oraz ilustrowanej na wykresie 1a (publikacja 3)
5. Tkanka tłuszczowa m.in. wytwarza speksynę – peptyd zbudowany z 14 aminokwasów, który stosunkowo niedawno został odkryty (w 2007 r.). Okazało się, że ekspresja genu kodującego prekursor speksyny jest obniżona w tkance tłuszczowej u osobników otyłych. W związku z tym, czy mogłaby Pani powiedzieć kilka zdań na temat roli tego peptydu w organizmie?

PODSUMOWANIE

W podsumowaniu pragnę stwierdzić, że rozprawa doktorska mgr Marty Wołosowicz zawiera bardzo liczne i wartościowe wyniki badań, które dotyczą oddziaływania egzogennych antyoksydantów (N-acetylocysteiny i kwasu *alfa*-liponowego) na parametry związane z dodatnim bilansem energetycznym organizmu i funkcjonowaniem tkanki tłuszczowej w warunkach otyłości wywołanej stosowaniem diety bogatotłuszczowej u szczurów doświadczalnych. Nowym i szczególnie cennym elementem przeprowadzonych badań było uwzględnienie w nich analizy

ekspresji genów, kodujących białka odpowiedzialne za transport kwasów tłuszczowych oraz metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej. Składniki te pełnią ważną rolę w funkcjonowaniu tkanki tłuszczowej. Ekspresję genów Doktorantka określała zarówno w trzewnej, jak i podskórnej tkance tłuszczowej na poziomie mRNA oraz białka. Przeprowadzenie wszystkich badań ujętych w rozprawie doktorskiej wymagało zastosowania wielu technik badawczych oraz dużego nakładu pracy. Zaangażowanie Doktorantki w przeprowadzenie badań i przygotowanie publikacji oraz odbyte staże i szkolenia wskazują na wysoki Jej potencjał w zakresie realizowania projektów badawczych. Zauważone przeze mnie w pracy doktorskiej nieścisłości i usterki nie obniżają jej wysokiej wartości merytorycznej.

WNIOSEK KOŃCOWY

W zakończeniu pragnę stwierdzić, że przedstawiona do oceny rozprawa zatytułowana **”Wpływ N-acetylocysteiny lub kwasu *alfa*-liponowego na ekspresję białkowych transporterów kwasów tłuszczowych oraz metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w trzewnej i podskórnej tkance tłuszczowej szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową”** spełnia wymagania – określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574) – stawiane rozprawom doktorskim i w związku z powyższym zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z wnioskiem o dopuszczenie mgr Marty Wołosowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie, ze względu na szeroki zakres przeprowadzonych badań, dotyczących ważnej problematyki, związanej ze zdrowiem człowieka oraz opublikowanie wyników tych badań w wysoko notowanych czasopismach naukowych przedkładam wniosek o rozważenie możliwości wyróżnienia ocenianej rozprawy doktorskiej.

Olsztyn 12.08.2022 r.

Stanisław Okrasa