



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM



RPW/2183/2023
Data: 2023-03-16
UMB

Wydział Lekarski

Katedra Fizjologii

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Tomasza Charytoniuka pt.
„Rola kannabidiolu (CBD) w niwelowaniu insulinooporności
mózgowia”

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana w Zakładzie Fizjologii Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, promotorem pracy był Pan prof. dr hab. Adrian Chabowski, promotorem pomocniczym Pani dr med. Karolina Konstantynowicz-Nowicka.

Do rozprawy doktorskiej zostały włączone trzy prace oryginalne opublikowane w prestiżowych czasopismach, Int. Journal of Molecular Sciences (IF= 6,208) International Journal of Molecular Sciences (IF=5,923) oraz Biomedicine & Pharmacotherapy (IF= 7,419) o łącznym IF=19,55.

Rozprawa doktorska podzielona została klasycznie i przejrzysto na rozdziały: wstęp, cele pracy, materiały i metody, wyniki, wnioski, streszczenia oraz włączone do dysertacji prace oryginalne.

Autor podjął się w swojej pracy zbadania powiązania pomiędzy otyłością oraz z wiązaną z nią insulinoopornością z chorobami neurodegeneracyjnymi. Wynika to z faktu, iż insulina regulująca stężenie glukozy we krwi została również uznana za czynnik pełniący istotną rolę w przekaźnictwie synaptycznym oraz w regulowaniu procesów pamięciowych i kojarzeniowych.

PL 31-531 Kraków
ul. Grzegorzewska 16
tel. +48(12) 421 10 06
+48(12) 619 96 30
fax +48(12) 422 20 14
fizjologia@cm-uj.krakow.pl

Ogólnoustrojowa oporność na insulinę i osłabienie szlaku sygnałowego insuliny w mózgu to cechy wspólne dla cukrzycy typu II (T2DM) oraz najczęstszego typu otępienia jakim jest choroba Alzheimera. Insulinooporność i T2DM są powiązane z nadmiarem sfingolipidów. W świetle najnowszych badań ta sama klasa lipidów może przyczyniać się do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych poprzez zmiany fosforylacji białka tau. Z drugiej strony literatura przedmiotu wskazuje na istotną korelację pomiędzy układem endokannabinoidowym a rozwojem otyłości, T2DM przy jednoczesnym działaniu neuroprotekcijnym.

Celami przeprowadzonych badań była:

1. Ocena wpływu kannabidiolu na zmiany zawartości frakcji sfingolipidów,
2. Ocena wpływu kannabidiolu na zmiany ekspresji i fosforylacji białek szlaku sygnałowego insuliny w korze mózgowej szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową
3. Ocena wpływu kannabidiolu na zmiany ilości sfingolipidów oraz stopień fosforylacji białka tau w korze mózgowej szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową
4. Weryfikacja wpływu kannabidiolu na wybrane elementy endokannabinoidomu w korze mózgowej szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową.

Badania zostały przeprowadzone na samcach szczurów Wistar po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej. Zwierzęta podzielono losowo na 4 grupy:

- kontrolną karmioną standardową paszą,
- HFD , w której insulinooporność indukowano dietą bogatotłuszczową,
- CBD, karmioną paszą standardową z dootrzewnowymi iniekcjami CBD,

- HFD+CBD, karmiona dietą bogatotłuszczową z dootrzewnowymi iniekcjami CBD

Po 7 tygodniach chowu zwierzęta usypiano i pobierano próbki kory mózgowej do badań:

- ekspresji receptora kannabinoidowego typu I (CB1R), hydrolazy amidów kwasów tłuszczowych¹, rec. Sprzężonego z białkiem G55 (GPR55), PPAR α, β, γ , receptora serotoninowego 1A (HTR1A), białek zaangażowanych w szlak insuliny (IRS-1, pIRS-1), kinazy białkowej B i jej form fosforylowanych, kinazy syntazy glikogenu 3 α i jej form fosforylowanych met. Western Blot,
- tkankowego stężenia poszczególnych form sfingolipidów metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC),
- tkankowego stężenia sfingomieliny metodą chromatografii gazowej (GLC),
- całkowitej ekspresji poszczególnych enzymów zaangażowanych w metabolizm sfingolipidów metodą Western Blot
- całkowitej ekspresji białka Tau i jego form fosforylowanych związanych z rozwojem chorób neurozwyrodnieniowych metodą Western Blot

Analiza statystyczna została przeprowadzona z użyciem testu Shapiro-Wilka oraz testu Bartletta. Różnice statystyczne pomiędzy badanymi grupami analizowano za pomocą two-way ANOVA, a następnie testu Tukeya i t-Studenta, za poziom istotności statystycznej uznano $p < 0,05$.

W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, iż podanie kannabidiolu w modelu insulinooporności indukowanej dietą bogatotłuszczową prowadzi do hamowania enzymów szlaku syntezy ceramidu *de novo* oraz szlaku ratunkowego w korze mózgowej szczurów. Co więcej Doktorant wykazał, że zastosowanie kannabidiolu w powyższym modelu skutkuje zmniejszeniem insulinooporności kory mózgowej, co było

jednocześnie powiązane se spadkiem kumulacji sfingolipidów. Kandydat wykazał ponadto, że podawanie kannabidiolu w warunkach stosowania diety bogatotłuszczowej zmniejsza fosforylację białka Tau co może być potencjalnym benefitem w przypadku zastosowania tej substancji w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych. Bardzo obecującym wynikiem jest również wykazany przez Autora spadek ekspresji HTR1A po podaniu kannabidiolu. Receptor ten zaangażowany jest w utratę neuronów i pogorszenie pamięci w zwierzęcym modelu choroby Alzheimera, a zatem wynik ten może stanowić ważną poszlakę przemawiająca na korzyść zastosowania konopii indyjskich w poszukiwaniu nowych metod leczenia chorób neurodegeneracyjnych.

Na szczególną pochwałę zasługuje staranne przedstawienie szlaków metabolicznych w korze mózgowej z licznymi odwołaniami do piśmiennictwa oraz dotychczasowego stanu wiedzy w regulacji metabolizmu lipidowego.

Konkludując uważam, że temat badań Doktoranta jest ważny, gdyż problem T2DM, otyłości, insulinooporności i chorób prowadzących do otępienia jest w dalszym ciągu nie do końca rozwiązany i brak jest skutecznego leczenia przyczynowego. Biorąc pod uwagę coraz większą liczbę chorych poszukiwanie skutecznego hamowania progresji zmian neurodegeneracyjnych jest jak najbardziej zasadne. Dodatkowo ciekawe byłoby np. skorelowanie masy ciała zwierząt przed i po 7 tyg podawania kannabidiolu ze stopniem fosforylacji białka Tau.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska spełnia wszystkie warunki ustawowe stawiane pracom doktorskim i wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Tomasza Charytoniuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 13.03.2023

Prof. dr hab. med. Agata Ptak-Belowska

Prodziekan
Wydziału Lekarskiego UJ CM
ds. anglojęzycznych i punktów studiów
prof. dr hab. med. Agata Ptak-Belowska