



Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej  
im. Mirosława Mossakowskiego  
Polskiej Akademii Nauk

Zespół Badawczo-kliniczny Fizjologii Stosowanej  
Prof. dr hab. n. med. Andrzej Ziemia

tel.: 48 606 192 100  
e-mail: [ziemba@imdik.pan.pl](mailto:ziemba@imdik.pan.pl)  
[ziemba.andrzej7@gmail.com](mailto:ziemba.andrzej7@gmail.com)

## **Recenzja rozprawy doktorskiej lek Klaudii Katarzyny Berk "Ocena wpływu Kannabidiolu (CBD) na zawartość i metabolizm sfingolipidów w podskórnej i trzewnej tkance tłuszczowej u szczurów z insulinoopornością indukowaną dietą bogatotłuszczową**

### ***Przedmiot rozprawy i jego znaczenie naukowe***

Powszechnie wiadomo, że dodatni bilans energetyczny organizmu prowadzi do hiperplazji tkanki tłuszczowej, otyłości i insulinooporności. Sytuacje te stanowią szczególne dysfunkcje organizmu, które wywołują szereg poważnych i negatywnych skutków zdrowotnych. Z tych względów szczególnego znaczenia nabiera opis i rozpoznanie szlaków metabolicznych, zwłaszcza tych, które związane są ze zmniejszeniem wrażliwości na insulinę i przebiegają w obrębie tkanki tłuszczowej. Przedstawiona do recenzji praca dotyczy przemian sfingolipidów, których akumulacja przyczynia się do rozwoju oporności na insulinę. W procesy regulacji bilansu energetycznego zaangażowany jest endonabinoidom, stanowiący sygnalizator w szlaku transdukcji sygnału. Diety bogatotłuszczowe powodują nadmierną aktywację tego związku co wywołuje szereg zmian metabolicznych skutkujących powstaniem zespołu metabolicznego. To krótkie wprowadzenie udowadnia, że badania dotyczące znaczenia szlaku sfingolipidów w insulinooporności są konsekwentnie kontynuowane zespół badawczy, którego członkiem jest Doktorantka stawiając go w czołówce światowej. Z drugiej strony temat doskonale wpisuje się w ogólnoswiatowe badania będące przedmiotem najogólniej ujmując problemów związanych z regulacją bilansu energetycznego, zaś bardziej szczegółowo wrażliwości na insulinę. Dowodem jest wysoki współczynnik wpływu czasopism, w których publikowane są prace Zakładu Fizjologii UMB.

### ***Charakterystyka i ocena strony formalnej pracy***

Przedstawiona do recenzji praca opiera się na dwóch pracach przedstawionych w: 1. Journal of Clinical Medicine (IF = 4,964, MEiN = 140), oraz 2. International Journal of Molecular Sciences (IF= 6,208, MEiN=140). Oświadczenia współautorów tych prac wskazują na wiodący 70% udział Doktorantki w powstaniu publikacji.

Zgodnie z klasyczną konstrukcją opracowań naukowych praca zawiera Wstęp, w którym Autorka wprowadza w zagadnienia, których dotyczy rozprawa. W sposób treściwy i przejrzysty w tej części omówiono szlaki metaboliczne lipidów i sfingolipidów w podskórnej i trzewnej tkance tłuszczowej oraz szlak insulinowy substratu receptora insulinowego -1, kinazy 3- fosfatydyloinozytolu i białko Akt (IRS1/PI3K/Akt). Następnie Autorka omówiła rolę endokannabinoidom w regulacji przemian węglowodanowo- lipidowych zwłaszcza w tkance tłuszczowej zlokalizowanej pod skórą i trzewnie. Na podstawie piśmiennictwa przedstawionego we Wstępie Doktorantka sformułowała cel rozprawy, którym było określenie kannabidiolu na przemiany sfingolipidów i transdukcji sygnałów insuliny w podskórnej i trzewnej tkance tłuszczowej. Badania zostały przeprowadzone z zastosowaniem zwierzęcego modelu insulinooporności wywołanej utrzymywaniem szczurów przez 7 tygodni na diecie bogatotłuszczowej.

Badane zwierzęta zostały podzielone zgodnie z zasadami sztuki na cztery grupy doświadczalne. Do analizy otrzymanych próbek zawierających poszczególne frakcje sfingolipidowe zastosowano wiarygodne i uznane metody wysoko ciśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC), a dla oszacowania ekspresji białek szlaku sfingolipidowego i insulinoowej transdukcji sygnałów metodę Western Blot.

### ***Uzyskane wyniki***

Podstawowym i najważniejszym odkryciem pracy doktorskiej lek. Klaudii Katarzyny Berk jest wykazanie, że kannabidiol obniża stężenie sfinganiny i ceramidu zarówno w podskórnej i wewnątrztrzewnowej tkance tłuszczowej u otyłych szczurów cierpiących na oporność insulinową, która została wywołana przez dietę bogatotłuszczową. W trzewnej tkance tłuszczowej kannabidiol powodował zmniejszenie gromadzenia sfingozyno-1 fosforanu i sfinganino – 1 fosforanu, natomiast w tkance tłuszczowej zlokalizowanej pod skórą zmniejszała się ilość sfingozyny. W obu badanych lokalizacjach tkanki tłuszczowej obniżanie zawartości sfingolipidów było skutkiem zmniejszenia ekspresji białek kontrolujących szlak syntezy de novo ceramidów i w konsekwencji jego hamowanie. Doktorantka wykazała, że w tkance tłuszczowej zlokalizowanej pod skórą zmniejszeniu ulegała ekspresja białek uczestniczących w tzw. szlaku alternatywnym (ratunkowym). Konsekwencją opisanych zmian biochemicznych było obniżenie zawartości ceramidu zarówno w podskórnej jak i wewnątrztrzewnowej tkance tłuszczowej.

Doktorantka stwierdziła ponadto podwyższenie ekspresji pAkt (Ser473)/Akt i pGSK3 $\beta$  czego skutkiem było zwiększenie wrażliwości komórek tłuszczowych na insulinę. Było to ściśle związane ze zmniejszeniem zawartości sfingaminy, ceramidu, sfingozyno-1 fosforanu i sfinganino – 1 fosforanu. Autorka stwierdza, że wpływ kanabidiolu na zwiększenie insulinowrażliwości jest większy w trzewnej tkance otrzewnowej. Jest to niezwykle ważne odkrycie, zważywszy, że to właśnie tkanka wewnątrztrzewnowa związana jest z negatywnym wpływem na przemianę materii i powoduje kształtowanie szeregu czynników ryzyka chorób metabolicznych i naczynio-krażeniowych. W tym świetle doniosły jest wniosek ostatni, czwarty wniosek przedstawiony przez Doktorantkę, bowiem otrzymane wyniki są na tyle zachęcające, że prace nad wpływem kanabidiolu na kształtowanie oporności insulinowej kryć mogą olbrzymi potencjał leczniczy.

### ***Uwagi polemiczne***

Praca jest wysmienita pod każdym względem. Z tego względu trudno jest wysnuwać uwagi krytyczne. Nasuwają mi się jednak dwie uwagi – pytania, na które z chęcią bym poznał opinię Doktorantki.

1. Zastosowany w pracy model zwierzęcy jest szeroko stosowany. Moje wątpliwości rodzą się w chwili, kiedy myślę o pewnych odrębnościach metabolizmu u gryzoni. Badania dotyczą subtelných, ale silnych zakłóceń przemiany materii związanych zaburzeniem równowagi energetycznej organizmu. Dysonans mój budzi posiadanie przez gryzonie dodatkowej tkanki tłuszczowej jaką jest brązowa tkanka tłuszczowa, której właściwość polega na możliwości generowania w pewnych sytuacjach, dużych ilości energii. W prawdzie w badaniach prowadzonych u tych zwierząt nic, albo niewiele wskazuje na zakłócającą model obecność brązowej tkanki tłuszczowej. A jednak...????
2. W ostatnich kilku dziesięcioleciach olbrzymią popularność wzbudza stosowanie przez ludzi diet bogatotłuszczowych. Niejasna jest rola tych diet w kształtowaniu insulino oporności. Piśmiennictwo naukowe ich dotyczące nie wyciąga tak negatywnych wniosków jak należałoby tego oczekiwać. Oczywiście ponownie pojawia się kwestia różnic międzygatunkowych (człowiek – szczur). Ciekawy jestem opinii Doktorantki na ten temat i będę wdzięczny za wyrażenie opinii.

### ***Uwagi dodatkowe***

Na podstawie nowej formy doktoratów opartych na dorobku publikacyjnym, będzie mi miło przedstawić sylwetkę Dyplomantki. Grupa doktorantów prof. A. Chabowskiego to osoby niewątpliwie wybijające się ponad przeciętność, a już na pewno spełniające z olbrzymim nadmiarem ustawowe wymagania stawiane dysertacjom doktorskim.



Do osób takich niewątpliwie należy Autorka obecnej pracy, czego dowodem jest fakt, że jest Ona Autorem, lub współautorem 15 publikacji naukowych zamieszczonych w prestiżowych periodykach naukowych o międzynarodowym zasięgu czego dowodem jest ich sumaryczny Współczynnik wpływu  $IF=60,929$  (punk. MEiN=1260). Doktorantka brała udział w 14 zjazdach i konferencjach naukowych. Odbyła trzy zagraniczne staże naukowe (w Niemczech, Włoszech i Portugalii). Była kierownikiem dwóch projektów badawczych i wykonawcą w dwóch innych. Pracuje społecznie w kołach naukowych i naukowych organizacjach społecznych. Za swoje aktywności została wyróżniona przez Dziekana Wydziału Medycznego UM w Białymstoku, Nagrodami Prorektora UM w Białymstoku i otrzymała stypendium Ministra Zdrowia za wybitne osiągnięcia. Zaiste, każdy przyzna, że nie jest typowe CV doktoranta

### ***Podsumowanie***

Przedstawiona praca stanowi istotny element uzupełniający obecną wiedzę dotyczącą zaburzeń bilansu energetycznego i jego konsekwencji w postaci rozwoju otyłości i insulino oporności. Poza informacjami podstawowym otrzymanymi przez Doktorantkę, jej wyniki kryją w sobie, zdaniem recenzenta, olbrzymi potencjał praktyczny w postaci opracowania, nawet nie w odległej perspektywie nowych algorytmów postępowania z otyłym pacjentem cierpiącym na oporność na insulinę.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że Wyniki przedstawione w dysertacji zostały opublikowane w periodykach naukowych o znaczącym współczynniku wpływu

### ***Wniosek końcowy***

Przedstawiona do recenzji praca reprezentuje wyjątkowo wysoki poziom naukowy i zasługuje na bardzo dobrą ocenę. Autorka dostatecznie udowodniła, że jest dojrzałym badaczem o szerokich kompetencjach naukowych..

Zdaniem recenzenta przedstawiona do oceny praca spełnia z nadmiarem wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Na podstawie art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r Prawo o Szkolnictwie Wyższymi nauce (tj. Dz.U. z 2023 poz 741, wnoszę do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie wysoki poziom przedstawionych badań oraz ich znaczenie praktyczne upoważnia mnie o wnioskowanie nagrody za przedstawioną pracę doktorską.

N&P 200 09.08.2023r. 