UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Wydział Lekarski

Katedra Fizjologii

Recenzja pracy doktorskiej mgr Klaudii Sztolsztener pt. „Wpływ zwiększonej dostępności kwasów tłuszczowych na metabolizm lipidów i rozwój zapalenia w komórkach wątroby"

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, m.in. International Journal of Molecular Sciences (IF=5,923) o łącznym IF=13,580, wartość punktacji MNiSW: 340.

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

Tematem pracy doktorskiej było określenie wpływu diety bogatotłuszczowej na zmiany zapalne w wątrobie. Problem zmian stłuszczeniowych wątroby od wielu lat stanowi

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

przedmiot badań gastrenterologii doświadczalnej z wykorzystaniem zarówno modeli zwierzęcych jak i *in vitro* z użyciem komercyjnie dostępnych linii komórkowych. Literatura tematu jasno stanowi, iż nasilona akumulacja lipidów w wątrobie jest głównym czynnikiem rozwoju zmian stłuszczeniowych w przebiegu niealkoholowego stłuszczenia tego narządu. Dodatkowo lipidy te ulegając procesowi estryfikacji przekształcają się w lipotoksyczne mediatory prowadzące m.in. do rozwoju insulinooporności.

W swojej pracy doktorskiej Doktorantka prowadziła badania *in vivo* (wątroba szczurów, u których stosowano dietę bogatotłuszczową) oraz w modelu *in vitro* (linia ludzkich komórek raka wątrobowokomórkowego HepG2).

Celami przeprowadzonych badań było:

1. Ocena zależności czasowej diety bogatotłuszczowej a rozwojem szeroko pojętego stanu zapalnego wątroby.
2. Ocena zależności czasowej pomiędzy długością diety bogatotłuszczowej oraz wewnątrzwątrobową akumulacją wybranych frakcji sfingolipidowych.
3. Określenie zależności pomiędzy czasem trwania diety bogatotłuszczowej a stopniem fosforylacji wybranych białek szlaku insulinowego w wątrobie.
4. Ocena krótko- i długotrwałej ekspozycji ludzkich komórek raka wątrobowokomórkowego na deksametazon.

W modelu *in vivo* oznaczona została zawartość kwasu arachidowego wybranych w frakcjach lipidowych oraz zawartość poszczególnych sfingolipidów. W tym celu zastosowano metodę chromatografii gazowej i cieczowej (GLC) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Ponadto wykonano oznaczenie ekspresji białek szlaku zapalnego oraz sfingolipidowego metodą Western blot. Parametry stresu oksydacyjnego białek ze szlaku insulinowego oznaczono metodą Elisa oraz zestawem testów multipleksowych. W modelu *in vitro* całkowitą zawartość lipidów oraz sfingolipidów oznaczano metodami GLC i HPLC. Ekspresję białkowych transporterów kwasów tłuszczowych zbadano metodą Western blot.

Doktorantka wykazała w swoich badaniach, że stłuszczenie wątroby indukowane dietą bogatotłuszczową prowadzi do akumulacji w tym narządzie kwasu arachidowego już w pierwszym tygodniu karmienia doświadczalnego. Powyższe zmiany współdziałają ze zwiększoną ekspresją cyklooksygenazy i lipooksygenazy. Procesowi powyższemu towarzyszył również rozwój stresu oksydacyjnego w komórkach. Dodatkowo wykazano nasilenie akumulacji sfingolizyyny i ceramidu w wątrobie szczurów karmionych dietąbogatą tłuszczową - co towarzyszyło insulinoodporności. W modelu *in vitro* wykazano istotną zależność pomiędzy czasem ekspozycji komórek linii HepG2 na deksametazon a efektem wywołanym przez to leczenie. Krótkotrwała (16 h) inkubacja ze sterydem zwiększała ekspresję dokomórkowych transporterów kwasów tłuszczowych. Doktorantka wykazała również, że przedłużona inkubacja komórek raka wątrobowokomórkowego z deksametazonem zwiększała aktywność anty - zapalnego szlaku n -3 wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z jednoczesnym obniżeniem wewnątrz komórkowej zawartości diacylogliceroli i triacylogliceroli. Wyniki powyższe świadczą o ochronnym działaniu deksametazonu dopiero w przedłużonym czasie inkubacji z komórkami HepG2.

We wnioskach Doktorantka podkreśliła potencjalne korzyści terapeutyczne z zastosowania deksametozonu w procesie zapobiegania stanów zapalnych komórek nowotworowych wątroby, co istotnie ogranicza proces progresji NAFLD do NASH.

Na szczególną pochwałę zasługuje staranne przedstawienie szlaków metabolocznych w wątrobie, np. insulinowego P13K/Akt/mTOR z licznymi odwołaniami do piśmiennictwa oraz dotychczasowego stanu wiedzy na rolę deksametazonu w regulacji metabolizmu lipidowego komórek wątroby.

W celu dokonania analizy statystycznej Doktorantka posłużyła się standardowym programem Prism oraz Statistica 10.

Uważam, że temat badań Doktorantki jest ważny, gdyż problem niealkoholowego stanu zapalnego wątroby z progresja do niealkoholowego stłuszczenia wątroby 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 zapalnych jest jak najbardziej zasadne. Ważnym wynikiem uzyskanym przez Doktorantkę jest udowodnienie protekcyjnego działania deksametazonu na komórki wątrobowe w przebiegu stresu oksygenacyjnego. W moim przekonaniu warto by było pokusić się o zastosowanie tego leczenia w modelu *in vivo* zmian zapalnych wątroby u szczurów karmionych dietą bogatotłuszczową oraz u zwierząt otyłych.

W mojej ocenie w recenzowanej pracy można by było rozszerzyć grupy badawcze w obu modelach celem porównania efektów deksametazonu np. z inhibitorami COX w obu modelach. Ponadto można by było rozważyć próbę oceny wpływu wysiłku fizycznego wśród badanych grup zwierząt na zmniejszenie niekorzystnego wpływu diety bogatotłuszczowej na komórki wątroby szczurów. Powyższe uwagi nie zmieniają jednak faktu, iż przedstawiona mi do oceny praca spełnia wszystkie formalne wymogi konieczne dla pracy doktorskiej.

Na uwagę zasługuje starannie dobrane piśmiennictwo zawierające najważniejsze i kluczowe dla tematu publikacje.

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 mgr Klaudii Sztolsztener do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

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

Kraków, 09.03.2022

Prof. dr hab. med. Agata Ptak-Belowska