dr hab. n. med. Jolanta Masiak
Samodzielna Pracownia Badań Neurofizjologicznych
Katedry Psychiatrii
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Głuska 1
20-439 Lublin

Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr Mateusza Maciejczyka p.t. „Enzymatyczna i nieenzymatyczna obrona antyoksydacyjna oraz oksydacyjne uszkodzenie białek, lipidów i DNA w wybranych strukturach mózgowia szczurów z insulinoopornością."

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Adrian Chabowski

Promotor pomocniczy: dr n. biol. Ewa Żebrowska

Zgodnie z uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, powołującą mnie do wypełnienia obowiązków recenzenta w przewodzie doktorskim mgr Mateusza Maciejczyka przedkładam recenzję rozprawy przygotowanej pod kierownictwem naukowym Pana Prof. dr hab. Adriana Chabowskiego. Równocześnie pragnę stwierdzić, co następuje:

rozprawa doktorska mgr Mateusza Maciejczyka p.t. „Enzymatyczna i nieenzymatyczna obrona antyoksydacyjna oraz oksydacyjne uszkodzenie białek, lipidów i DNA w wybranych strukturach mózgowia szczurów z insulinoopornością."

1. stanowi oryginalne rozwiązanie przez Doktoranta zagadnienia naukowego;
2. w przedstawionej do oceny rozprawie Doktorant wykazał ogólną wiedzę teoretyczną przedmiotu;
3. lektura przedłożonej pracy potwierdza umiejętności Doktoranta do prowadzenia pracy naukowej.

Przygotowana przez Doktoranta rozprawa doktorska w pełni odpowiada kryteriom wynikającym z ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym. W uzasadnieniu tych ocen przedstawiam następujące uwagi i spostrzeżenia merytoryczne dotyczące recenzowanej rozprawy doktorskiej.

1. **Uwagi ogólne**

Autor podejmuje bardzo aktualny i ważny temat badawczy: poszukiwania związków między chorobami metabolicznymi i neurodegeneracyjnymi. Zaburzenia otępienne są przyczyną ciężkiej niepełnosprawności osób, które ich doświadczają, stąd poszukiwanie przyczyn tych zaburzeń i odpowiedniego leczenia jest koniecznością. Przez wiele lat sądzono, że w OUN nie ma receptorów wrażliwych na insulinę dopiero odkrycia ostatnich lat pokazały, że w strukturach mózgowia: podwzgórzu, hipokampie, móżdżku i korze mózgowej są zlokalizowane receptory insulinowe a insulina po przekroczeniu bariery krew mózg wpływa na procesy neurotransmisji i w ten sposób na plastyczność synaptyczną i apoptozę, które to procesy warunkują prawidłowe funkcje poznawcze. Zaburzenia metaboliczne u osób z obwodową insulinoopornością mogą być odpowiedzialne za indukcję stresu oksydacyjnego w mózgu, stąd badania, które podjął Doktorant: zaburzeń metabolicznych w przebiegu insulinooporności jako źródła wolnych rodników o stresu oksydacyjnego są w pełni uzasadnione naukowo. Autor wskazuje na braki w dotychczasowej wiedzy badań, które „oceniają udział zaburzeń równowagi redoks w uszkodzeniach oksydacyjnych konkretnych struktur mózgowia a także badań zależności między aktywnością enzymów proutleniających barierą oksydacyjną i uszkodzeniami oksydacyjnymi białek, lipidów i DNA w przebiegu insulinooporności.” Podjęcie tych badań przez Doktoranta jest uzasadnione.

2. **Uwagi szczegółowe**

Przedstawiona rozprawa doktorska liczy łącznie z piśmiennictwem i załącznikami 73 strony. Rozprawę doktorską stanowi cykl opublikowanych artykułów. Praca podzielona jest na części: Curriculum Vitae badacza, Zestawienie publikacji, Rozprawa doktorska w której wyodrębniono rozdziały: „Artykuły stanowiące cykl prac włączonych do rozprawy doktorskiej" -1 strona, „Wstęp" - 4 strony, „Cele pracy" - 1 strona „Materiał i metody" - 4 strony, „Wyniki" - 4 strony, „Wnioski" 1 strona, „Publikacja przeglądowa" - 19 stron, „Publikacja oryginalna" - 12 stron. Zamieszczono też streszczenie w języku polskim i angielskim. Praca napisana jest w sposób bardzo jasny, starannie opracowana pod względem edytorskim.

Artykuły włączone do cyklu prac to oryginalna praca „Redox balance, antioxidant defense, and oxidative damage in the hypothalamus and cerebral cortex of rats with high fat diet-induced insulin resistance" opublikowana w czasopiśmie: Oxidative medicine and cellular longevity 06.10. 2018 roku i praca przeglądowa „Insulin Resistance and Oxidative Stress in the Brain: What's New?" opublikowana w czasopiśmie: International journal of molecular sciences, 18.02.2019 roku.

W części badawczej Doktorant przedstawia główny cel badania ocenę enzymatycznej i nieenzymatycznej obrony antyoksydacyjnej oraz oksydacyjnych uszkodzeń białek, lipidów i DNA w podwzgórzu, korze mózgowej i osoczu/surowicy krwi szczurów z insulinoopornością indukowaną dietą wysokotłuszczową w porównaniu z grupą kontrolną. Sformułował także trzy szczegółowe cele badania:

„ocenę zależności między aktywnością enzymów generujących powstawanie wolnych rodników tlenowych a aktywnością/stężeniem antyoksydantów i uszkodzeniem oksydacyjnym białek, lipidów i DNA w podwzgórzu i korze

mózgu szczurów z insulinoopornością indukowaną dietą wysokotłuszczową w porównaniu z grupą kontrolną

oraz ocenę zależności między aktywnością/stężeniem antyoksydantów a uszkodzeniem oksydacyjnym białek, lipidów i DNA w podwzgórzu i korze mózgu oraz osoczu/surowicy krwi szczurów z insulinoopornością indukowaną dietą wysokotłuszczową w porównaniu z grupą kontrolną

ocenę różnic odpowiedzi antyoksydacyjnej oraz oksydacyjnych uszkodzeń białek, lipidów i DNA w podwzgórzu i korze mózgu szczurów z insulinoopornością indukowaną dietą wysokotłuszczową w porównaniu z grupą kontrolną" (str. 15 rozprawy doktorskiej)

Na prowadzenie badań Doktorant uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej w Białymstoku nr 89/2015.

Badania zostały przeprowadzone na 2 grupach dojrzałych płciowo samców szczurów szczepu Wistar, początkowa masa ciała szczurów w obu grupach wynosiła 65-75 g. Grupa I była karmiona dietą wysokotłuszczową o zawartości 60 kcal% tłuszczów, 20 kcal% węglowodanów i 20 kcal% białek grupa II dietą standardową zawierającą 10,3 kcal% tłuszczów, 65,5 kcal% węglowodanów i 24,2 kcal%. Po ośmiu tygodniach poddano analizie pobraną od zwierząt krew z aorty brzusznej, podwzgórze i korę mózgu. Aby ocenić insulinooporność oznaczono stężenie glukozy we krwi ogonowej szczurów, natomiast stężenie insuliny (metoda ELISA) i wolnych kwasów tłuszczowych (metoda chromatografii gazowej) oznaczano w osoczu krwi. Po uzyskaniu wyników badania oznaczono wskaźnik HOMA-IR. Oznaczono w homogenatach podwzgórza, kory mózgu a także w surowicy/osoczu krwi aktywność enzymów generowanie wolnych rodników tlenowych: oksydazy NADPH (NOX) i oksydazy ksantynowej (XO) z zastosowaniem metod kolorymetrycznych/fluorymetrycznych; aktywność enzymów antyoksydacyjnych: peroksydazy glutationowej, reduktazy glutationowej,

katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej-1 stosując metody kolorymetryczne, stężenie antyoksydantów nieenzymatycznych (kwas moczowy) i oznaczono także status redoks (całkowity potencjał antyoksydacyjny, całkowity potencjał oksydacyjny także przy zastosowaniu metod kolorymetrycznych po uzyskaniu wyników obliczono indeks stresu oksydacyjnego; oznaczono stężenie produktów oksydacyjnych modyfikacji białek, lipidów i DNA za pomocą metod kolorymetrycznych i ELISA. Oznaczenia przeprowadzono na próbach podwójnych/potrójnych i wystandaryzowano na 1mg białka całkowitego.

Analizę statystyczną wyników badań wykonano z zastosowaniem programu Statistica w wersji 12.0 i GraphPad PRISM 7.0, w analizie statystycznej zastosowano odpowiednie testy z uwzględnieniem normalności rozkładu grup zmiennych: dla rozkładu normalnego zastosowano testy parametryczne, w przypadku braku normalności rozkładu zastosowano testy nieparametryczne. Testy zostały prawidłowo dobrane zarówno ze względu na rodzaj zmiennych jak i normalność ich rozkładu.

Uzyskane wyniki badania umożliwiły Doktorantowi sformułowanie wniosków, że dieta wysokotłuszczowa indukuje ustrojową insulinooporność a także prowadzi do zaburzenia równowagi redoks i do stresu oksydacyjnego zarówno dotyczyło to w badaniu osocza/surowicy krwi, ale także badanego mózgu.

Za nasilone uszkodzenia oksydacyjne mózgowia szczurów, u których wystąpiła insulinooporność indukowana dietą wysokotłuszczową, może w badaniu odpowiadać wyższa aktywność enzymów proutleniających.

W badaniu stres oksydacyjny stwierdzony został w obu badanych strukturach mózgu a kora mózgu szczurów charakteryzuje się większą wrażliwością na uszkodzenia oksydacyjne niż podwzgórze u badanych szczurów, u których wystąpiła insulinooporność indukowana dietą wysokotłuszczową.

Ogólnoustrojowa insulinooporność jest związana z uszkodzeniami oksydacyjnymi podwzgórza i kory mózgu choć nie jest to jedyny czynnik odpowiedzialny za uszkodzenia oksydacyjne tych okolic mózgu.

Wyniki badania uwrażliwiają klinicystów psychiatrów na konieczność normalizacji zaburzeń metabolicznych u pacjentów z zaburzeniami psychicznymi i potwierdzają, że wysiłek który klinicyści podejmują intensywnie psychoedukując pacjentów leczonych neuroleptykami, które mogą wpływać | na metabolizm i preferencje dietetyczne pacjentów, jest uzasadniony dowodami uzyskiwanymi w badaniach podstawowych.

Trudno doszukać się w pracy nawet pojedynczych błędów literowych. Rozprawa napisana jest z wielką starannością. Dorobek naukowy Doktoranta w zakresie jakości i ilości publikacji, udziału w grantach i odbytych szkoleń jest imponujący.

Przedstawioną pracę należy uznać za wyróżniającą się.

PODSUMOWANIE I WNIOSEK

Reasumując pragnę stwierdzić, że rozprawa doktorska mgr Mateusza Maciejczyka p.t. „Enzymatyczna i nieenzymatyczna obrona antyoksydacyjna oraz oksydacyjne uszkodzenie białek, lipidów i DNA w wybranych strukturach mózgowia szczurów z insulinoopornością.”

Stanowi oryginalne rozwiązanie przez Doktoranta zagadnienia naukowego;

1 W przedstawionej do oceny rozprawie Doktorant wykazał ogólną wiedzę teoretyczną przedmiotu;
2 Recenzowana rozprawa doktorska potwierdza umiejętności Doktoranta do prowadzenia pracy naukowej;
3 Badania zaprezentowane w rozprawie doktorskiej są oryginalne w skali międzynarodowej i powinny być kontynuowane w związku z powyższym wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej

4 Przygotowana praca w pełni spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim wynikające z Ustawy o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, o dopuszczenie mgr Mateusza Maciejczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Jolanta Masiak

dr hab. n. med. Jolanta Masiak

Lublin 2019-03-10