Kraków, 05.04.2016

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM

Wydział Lekarski

Katedra Fizjologii

**RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**Mgr Bartłomieja Łukaszuka pt." Wpływ obniżenia ekspresji PCG-1α na rozwój insulinooporności w linii komórkowej mięśni szkieletowych L6"**

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana w Zakładzie Fizjologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierownictwem Prof. dr hab. Adriana Chabowskiego, a sfinansowana w ramach statutu KNOW oraz Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007-2013.

Rozprawę doktorską stanowią dwie publikacje: „The role of PCG-1α in the development of insulin resistance in skeletal muscle-revisited" oraz " Modest decrease in PCG-1αresults in TAG accumulation but not insulin resistance in L6 myotubes" o łącznym IF 5,75. Publikacje poprzedzone są omówieniem podzielonym klasycznie na 8 rozdziałów obejmujących m. in. wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, wnioski oraz piśmiennictwo zawierające 44 pozycje.

Autor skoncentrował się na korelacji pomiędzy otyłością a poprzedzającą ją często insulinoopornością mięśni szkieletowych. Otyłość, na którą wg. WHO cierpi 600 mln ludzi na świecie wynika z zaburzenia gospodarki energetycznej ustroju i stanowi jedną z najczęstszych chorób

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

cywilizacyjnych. Stanowi ona poważny czynnik ryzyka innych chorób, np. cukrzycy typu II, nowotworów nerki oraz przewodu pokarmowego, nadciśnienia, zawału mięśnia sercowego. Dlatego szczególnie cenne jest prowadzenie badań mających na celu poznanie mechanizmów zaburzających homeostazę u osób z otyłością.

Ponieważ mięśnie szkieletowe są bardzo aktywną metabolicznie tkanką stanowiącą ok. 40% masy ciała osoby dorosłej i wychwytują prawie 80% glukozy przyjmowanej w pokarmach Autor postanowił zbadać zaburzenia szlaku insulinowego przekaźnictwa sygnału w miocytach. Wynikało to z założenia, że zaburzenia insulinowrażliwości miocytów spowodują rozwój insulinooporności całego organizmu. Dotychczasowe badania wykazały bowiem, że istnieje związek pomiędzy ustrojową ilością tkanki tłuszczowej a insulioopornością w mięśniach szkieletowych. Najważniejszym zaś mechanizmem prowadzącym do insulioopornośći miocytarnej jest prawdopodobnie zmniejszenie translokacji GLUT-4 do błony komórkowej. Może to wynikać z akumulacji diacyloglicerolu i ceramidu w komórkach mięśniowych. Z kolei proces akumulacji lipidów poprzez wzrost ich wychwytu komórkowego i/lub syntezy wynika z aktywacji białkowego koaktywatora PGC-1α, którego główną rolą jest regulacja liczby i możliwości oksydacyjnych mitochondriów zwiększających utylizacje lipidów. Dlatego celem pracy było zbadanie wpływu krótkotrwałego wyciszenia PGC-1α (metodą siRNA) na aktywność enzymów mitochondrialnych, ilość transporterów kwasów tłuszczowych, dokomórkowy transport kwasów tłuszczowych oraz dokomórkowy wychwyt glukozy. Doświadczenia wykonano na szczurzych liniach komórek mięśniowych w 3 grupach: kontrola, grupa z wyciszonym PGC-1α oraz kontrola negatywna dla siRNA. Autor wykazał, że niewielkie (24%) obniżenie ekspresji PGC-1α skutkuje obniżeniem aktywności mitochondrialnej oraz utylizacji kwasów tłuszczowych oraz trendem do obniżenia stymulowanego insulina wychwytu glukozy przy jednoczesnym braku zmian ekspresji GLUT 1-4 co może stanowić pierwsze symptomy rozwoju insulinoopornosci miocytarnej.

Mocną stroną recenzowanej rozprawy doktorskiej jest różnorodność metod zastosowanych w trakcie badań, co świadczy o doskonałym przygotowaniu technicznym Autora, takich jak:

- Ocena ekspresji mRNA metodą RT-PCR
- Ocena stężenia białek metoda Western Blot
- Ocena wychwytu kwasu palmitynowego znakowanego izotopem metodą scyntylograficzną,
- Ocena zawartości ceramidów i gliceroli metodą cienkowarstwowej chromatografii cieczowej TLC oraz chromatografii gazowo-cieczowej GLC.

Ponadto Autor potrafił wyciągnąć interesujące wnioski mimo braku jednoznacznych wyników potwierdzających hipotezę, że wyciszenie PGC-1α wystarczy do wywołania pełnej insulinooporności komórek mięśniowych. Być może stopień wyciszenia PGC-1α był za niski (ekspresja mRNA dla PGC-1α obniżona o 60% a ekspresja białka o 24%) i niewystarczający do uzyskania pełnej insulinooporności. Uważam, że Autor powinien rozważyć kontynuację badań, w których za wyciszenie PGC-1α za pomocą siRNA uzna redukcję ekspresji mRNA dla tego czynnika na poziomie co najmniej 80%. Ponadto korzystne byłoby również porównanie efektu wyciszenia PGC-1α w innych liniach komórkowych mięśni szkieletowych.

Powyższe uwagi nie umniejszają jednakże wartości merytorycznej przedstawionej mi do oceny pracy. Stanowi ona ciekawy wkład w badania nad patomechanizmem insulinoopornosci i potencjalnymi możliwościami terapeutycznego jej przełamywania.

Stwierdzam zatem, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim oraz wymogi Ustawy o stopniach i tytułach naukowych. W związku z tym wnioskuję do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii Uniwersytetu

Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pana mgr Bartłomieja Łukaszuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

KIEROWNIK
Pracowni Genetyki i Biologii Molekularnej
Katedry Fizjologii UJ CM

*Dr hab. n. med. Agata Ptak-Belowska*