Kraków, 26.04.2019

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM

Wydział Lekarski

Katedra Fizjologii

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr Elżbiety Supruniuk pt. „Wpływ farmakologicznej stymulacji koaktywatora PGC-1α na metabolizm lipidów w komórkach mięśni szkieletowych".

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana w Zakładzie Fizjologii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierownictwem Prof. dr hab. Adriana Chabowskiego, promotorem pomocniczym była Pani dr n. med. Agnieszka Mikłosz. Rozprawę doktorską stanowi cykl prac: „ The implication of PGC-1α on fatty acid transport across plasma and mitochondrial membranes in the insulin sensitive tissues" *Frontiers in Physiology* (IF= 3,394) oraz " Dose- and time-dependent alterations in lipid metabolism after pharmacological PGC-1α activation in L6 myotubes" *Journal of Cellular Physiology* (IF=3,923).

Długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LCFA) są podstawowym substratem energetycznym mięśni szkieletowych oraz regulują wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe. Zaburzenie ich metabolizmu leży u podstawy insulinooporności, niektórych chorób zapalnych oraz nowotworów. Farmakologiczna regulacja metabolizmu LCFA stanowi ważny cel badawczy. Przeprowadzone do chwili obecnej badania wskazują na kluczową rolę koaktywatora 1α receptora γ aktywowanego przez

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

proliferatory peroksysomów (PGC-1α) w transkrypcji genów odpowiedzialnych za kodowanie białek biorących udział w procesach syntezy lipidów. Jednakże brak jest danych oceniających pływ aktywacji farmakologicznej PGC-1α na przemiany sfingolipidów w mięśniach. Wobec powyższego Doktorantka ze szczegółowe cele swoich badań uznała:

- Ocenę efektywności stymulacji PGC-1α w komórkach mięśni szkieletowych poddanych krótkotrwałej (2h) oraz długotrwałej (24 h) stymulacji PQQ,
- Ocenę wpływu wywołanej nadekspresji PGC-1α na metabolizm lipidów (dokomórkowy transport FA oraz zawartość wybranych frakcji lipidowych).

Badania zostały przeprowadzone *in vitro* na szczurzych komórkach mięśni szkieletowych (L6 myotubes). Efektywność nadekspresji PGC-1α wywołanej stymulacją PQQ badano metodami Real-Time PCR (mRNA) oraz Western Blot (białko). Dokomórkowy wychwyt kwasu palmitynowego oznaczano metodą scyntylograficzną a zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych metoda chromatografii gazowo-cieczowej. Uzyskane wyniki zanalizowano testem ANOVA, testem Kruskala-Wallisa oraz testem Wilcoxona. Zastosowano również ciekawą korektę Benjaminiego-Hochberga.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka wykazała, że nadekspresja PGC-1α, zarówno na poziomie mRNA jak i białka, zależy zarówno od stężenia jak i czasu inkubacji z PQQ przy jednoczesnym braku wpływu tej stymulacji na wielkość dokomórkowego transportu kwasu palmitynowego. Ponadto Kandydatka udowodniła, że stymulacja PQQ skutkuje zmniejszeniem wewnątrzkomórkowej zawartości FFA oraz zwiększeniem stężenia triacyloglicerolі (działanie protekcyjne). Dodatkowo Doktorantka w wyniku przeprowadzonych eksperymentów wykazała, iż wewnątrzkomórkowa akumulacja CER wynikająca z nadekspresji PGC-1α może wynikać z aktywacji szlaku syntezy CER *de novo*, hydrolizy sfingomieliny lub indukcji „szlaku ratunkowego".

W moim przekonaniu istotną stroną przeprowadzonych badań jest próba oceny możliwości ingerencji farmakologicznej w mechanizmy leżące u podstaw insulinooporności. Ze względu na fakt, iż insulinopoprność w wielu przypadkach poprzedza rozwój cukrzycy typu II odkrycie możliwości odwracania tego procesu umożliwiłoby skuteczną terapię tej choroby cywilizacyjnej. Wiadomo bowiem , że nadmierna podaż LCFA w pożywieniu powoduje zwiększoną akumulację lipidów wewnątrz miocytów i prowadzi do zaburzenia wewnątrzkomórkowego szlaku sygnałowego insuliny. LCFA transportowane są do wnętrza miocytów poprzez białka transportujące, których ekspresja koreluje zarówno z intensywnością transportu jak i z utylizacją wewnątrzkomórkową kwasów tłuszczowych. Interesujące z punktu widzenia klinicznego są możliwości regulacji transportu LCFA zarówno na poziomie transkrypcji jak i przez czynniki posttranslacyjne, np. kinazy (MAPK, PI3K). Doktorantka dodatkowo odkryła, iż kolejnym potencjalnym punktem „uchwytu" dla farmakologii jest PGC-1α poprzez stymulacje PQQ

Ponadto mocną stroną recenzowanej rozprawy doktorskiej jest różnorodność metod zastosowanych w trakcie badań, co świadczy o doskonałym przygotowaniu technicznym, jak ocena zawartości różnych frakcji lipidowych metodą cienkowarstwowej chromatografii.

Uważam jednakże , że Autorka powinna rozważyć kontynuację badań z użyciem dodatkowych linii komórkowych (np. kardiomiocytów) celem oceny swoistości uzyskanych wyników badań oraz rozważyć próbę wykorzystania uzyskanych efektów w badaniach na zwierzętach. Ciekawym byłoby np. skorelowanie wyniku stymulacji PQQ na wewnątrzkomórkową akumulację CER z dozowanym wysiłkiem fizycznym w badaniach na zwierzętach.

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 Mgr Elżbiety Supruniuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

Katedra Fizjologii UJ CM
Pracownia Genetyki i Biologii Molekularnej

prof. dr hab. n. med. Agata Ptak-Belowska
Kierownik Pracowni