



Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Grzegorza Biedrzyckiego pt. „Właściwości antyglikacyjne leków antyhistaminowych w badaniach *in vitro*” wykonanej pod nadzorem promotorskim dr hab. n. med. Mateusza Maciejczyka

Ocena formalna

Przedstawiona do recenzji rozprawa mgr. Grzegorza Biedrzyckiego pt. „Właściwości antyglikacyjne leków antyhistaminowych w badaniach *in vitro*” powstała pod kierunkiem dr. hab. n. med. Mateusza Maciejczyka w Zakładzie Higieny, Epidemiologii i Ergonomii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Rozprawę stanowi cykl dwóch publikacji naukowych w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu. Prace opublikowano w renomowanych czasopismach *Pharmaceuticals* oraz *Biomedicine & Pharmacotherapy* o łącznej punktacji Impact Factor równej 11,2 oraz 200 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Układ rozprawy jest typowy dla tego typu prac. Rozprawa liczy 85 stron i składa się z 13 rozdziałów: Wykaz publikacji, Wstęp, Cel pracy, Realizacja celów naukowych, Wnioski, Piśmiennictwo, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Kserokopie publikacji, Opinia Komisji Etycznej, Oświadczenia autora i współautorów oraz Dorobek naukowy doktoranta. Kserokopie publikacji nie zawierają jednak wykazu literatury (zamieszczono tylko pierwsze strony z wykazem piśmiennictwa).



Doktorant jest pierwszym autorem w obu publikacjach. Jego udział w powstaniu prac był wiodący – obejmował opracowanie koncepcji badań, analizę formalną, wykonanie oznaczeń laboratoryjnych, interpretację wyników, przygotowanie i zatwierdzenie manuskryptów oraz odpowiedzi na recenzje.

W dysertacji brakuje informacji na temat źródła finansowania badań.

Ocena merytoryczna

Celem rozprawy była ocena właściwości antyglukooksydacyjnych najczęściej stosowanych leków przeciwhistaminowych. Cele szczegółowe obejmowały:

1. Ocenę stopnia hamowania glikacji oraz utleniania białek przez wybrane antagonisty receptora H1 i H2 w zależności od budowy chemicznej oraz generacji leków w modelach in vitro
2. Porównanie stopnia hamowania glikacji oraz utleniania białek przez wybrane leki antyhistaminowe H1 i H2 w odniesieniu do substancji o udokumentowanych właściwościach przeciwglikacyjnych (aminoguanidyna) i antyoksydacyjnych (Trolox) w modelach in vitro
3. Ocenę właściwości przeciwutleniających leków antyhistaminowych

Glikooksydacja białek odgrywa kluczową rolę w przebiegu wielu schorzeń, w tym chorób alergicznych oraz chorób zapalnych błony śluzowej żołądka. Niewiele jednak wiadomo na temat właściwości antyglukooksydacyjnych leków antyhistaminowych. Podjęta tematyka badawcza jest więc aktualna oraz posiada potencjał translacyjny.



W omawianych publikacjach Doktorant analizował właściwości antyglikooksydacyjne blokerów receptora H1 (tj. difenhydramina, antazolina, prometazyna, ketotifen, klemastyna, feniramina, cetyryzyna, lewocetyryzyna, bilastyna, feksofenadyna, desloratadyna, loratadyna) oraz leków przeciwhistaminowych H2 (tj. ranitydyna, cymetydyna, famotydyna). W badaniach wykorzystano białko modelowe – albuminę surowicy bydlęcej (BSA). Proces glikacji BSA przeprowadzono zgodnie z wcześniej opublikowanym protokołem przy użyciu cukrów (glukozy, fruktozy, galaktozy i rybozy) oraz aldehydów (glioksalu i metyloglioksalu). Stężenia produktów glikacji i utleniania białek oceniono wykorzystując metody fluorymetryczne i kolorymetryczne. Analizę dokowania molekularnego przeprowadzono za pomocą oprogramowania AutoDock MGL Tools. Analizę statystyczną wyników wykonano w programie GraphPad Prism.

Część metodyczna nie budzi zastrzeżeń – została przeprowadzona z wykorzystaniem właściwych modeli badawczych *in vitro* i *in silico*. Mam tylko jedno pytanie: dlaczego roztwory substancji sączono wyjaławiająco, skoro do prób dodawano azydek sodu? W badaniach oceniono różnorodne biomarkery utleniania, glikacji oraz glikooksydacji białek, co pozwala na miarodajną ocenę tempa hamowania glikacji przez badane leki antyhistaminowe. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono z użyciem adekwatnych testów.

Wyniki przedstawiono w formie czytelnych tabel i wykresów oraz poprawnie zinterpretowano. Spośród analizowanych blokerów H2 jedynie ranitydyna istotnie hamowała glikację BSA we wszystkich badanych modelach. Zawartość grup karbonylowych, produktów glikooksydacji BSA (dityrozyna, N-formylkynurenina) oraz wczesnych (produkty Amadori) i późnych (końcowe produkty zaawansowanej glikacji) produktów glikacji zmniejszyła się istotnie w próbkach BSA z dodatkiem ranitydyny w stosunku do BSA z dodatkiem czynników



glikujących. Potencjał antyglikacyjny ranitydyny był porównywalny do aminoguanidyny i Troloxu. Żaden z badanych antagonistów receptora histaminowego H1 nie wykazał bezpośredniego działania antyglikacyjnego.

Uważam, że uzyskane wyniki mają potencjał aplikacyjny i stanowią punkt wyjścia do dalszych badań. Pojawia się jednak pytanie: dlaczego nie oceniono właściwości antyoksydacyjnych blokerów H1 w testach wymiatania wolnych rodników, skoro wykonano takie oznaczenia dla blokerów H2?

Dyskusja zawarta w publikacjach świadczy o dużej wiedzy merytorycznej Doktoranta. Stanowi sumienne omówienie wyników w odniesieniu do dotychczasowej literatury naukowej (139 artykułów). Cytowane pozycje piśmiennictwa stanowią w większości artykuły z ostatnich 5-10 lat. Wartością dodaną jest systematyczny przegląd literatury dotyczący właściwości antyglikacyjnych blokerów receptora H2. Wyniki omówiono uwzględniając ograniczenia wszystkich badań.

Z badań wyciągnięto następujące wnioski:

1. Leki przeciwhistaminowe H1 nie wykazują bezpośredniego działania antyglikacyjnego w warunkach *in vitro*
2. Tempo hamowania glikooksydacji białek przez blokery H1 nie zależy od budowy chemicznej oraz generacji leku
3. Spośród wszystkich badanych blokerów receptora H2, najsilniejsze właściwości antyglikoksydacyjne w badaniach *in vitro* wykazuje ranitydyna. Hamuje ona glikację oraz utlenianie BSA w stopniu porównywalnym do aminoguanidyny i Troloxu



4. Spośród badanych leków antyhistaminowych H₂ najsilniejsze właściwości przeciwtleniające wykazuje ranitydyna, która oprócz wymiatania wolnych rodników, posiada również zdolność wiązania jonów metali przejściowych
5. Niezbędne są dalsze badania nad potencjalnym zastosowaniem ranitydyny u osób z chorobami o etiologii stresu karbonylowego (tj. cukrzyca, choroby układu krążenia oraz choroby neurodegeneracyjne). Należy także dokładniej wyjaśnić mechanizmy hipoglikemicznego działania leków antyhistaminowych

Rozprawa napisana jest poprawnym językiem, choć znaleźć w niej można nieliczne błędy językowe i interpunkcyjne.

Podsumowanie

Rozprawę doktorską mgr Grzegorza Biedrzyckiego pt. „Właściwości antyglukacyjne leków antyhistaminowych w badaniach in vitro” oceniam pozytywnie. Badania zaplanowano i zrealizowano w sposób prawidłowy, a uzyskane wyniki właściwie zinterpretowano. Główne i szczegółowe cele badawcze zostały zrealizowane. Uważam, że recenzowana rozprawa dostarcza nowatorskiej wiedzy na temat właściwości antyglukoksydacyjnych leków przeciwhistaminowych H₁ i H₂.

Zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr. Grzegorza Biedrzyckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz publicznej obrony. Rozprawa stanowi znaczący wkład w rozwój nauk medycznych i nauk o zdrowiu oraz spełnia wszystkie warunki ustawy o stopniach i tytułach naukowych. Z uwagi na potencjał aplikacyjny



wyników, jak również wysoką punktację Impact Factor oraz Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego cyklu prac, wnoszę też o wyróżnienie rozprawy.

dr hab. n.med. Ryszard Tomasiuk, prof. URad.
Dziekan Wydziału Nauk Medycznych i Nauk
o Zdrowiu Uniwersytetu Radomskiego
im. Kazimierza Pułaskiego