

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach  
Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu

**Katedra Dietetyki**  
**Zakład Żywienia Człowieka**

41-808 Zabrze, ul.: Jordana 19, tel./fax: 32 275 51 95  
e-mail: [zzc@sum.edu.pl](mailto:zzc@sum.edu.pl)

---

Zabrze, 10.11.2016

*Ocena rozprawy doktorskiej lek. Aleksandry Matuszyk*

*pt.: "Wpływ podawania peptydów kodowanych przez gen greliny na uszkodzenia błony śluzowej jelita grubego wywołane kwasem octowym"*

Dla prawidłowego działania przewodu pokarmowego szczególne znaczenie ma zachowanie integralności błony śluzowej. Szkodliwe czynniki dostają się do światła przewodu pokarmowego wraz z pokarmem. Błona śluzowa przewodu pokarmowego zaopatrzona jest w szereg mechanizmów ochronnych. Dynamiczna równowaga pomiędzy czynnikami szkodliwymi a mechanizmami ochronnymi, pozwala na zachowanie integralności błony śluzowej przewodu pokarmowego.

Uszkodzenie błony śluzowej jelita grubego może prowadzić do nieswoistych chorób zapalnych jelit. Należą do nich: wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Leśniowskiego-Crohna, czy niespecyficzne zapalenie jelit. Przyczyna nieswoistych zapaleń jelit nie została w pełni poznana. Prawdopodobnie w ich rozwoju odgrywają istotną rolę czynniki infekcyjne, predyspozycje genetyczne, dysfunkcja immunologiczna oraz interakcje wymienionych czynników. W Polsce na nieswoiste zapalenia jelit choruje ok. 50 tysięcy pacjentów. Leczenie wiąże się z licznymi trudnościami, choć dzięki najnowszym osiągnięciom medycyny można monitorować ich przebieg. Niemniej, prowadzone są badania doświadczalne i kliniczne ukierunkowane na poszukiwanie i ocenę nowych, bardziej skutecznych metod terapeutycznych tych chorób.

*Grelina i obestatyna*, są to polipeptydy pochodzące z preprogreliny, wykazujące działanie ochronne i lecznicze w przewodzie pokarmowym.

*Grelina*, odkryta w 1999 r. jako endogenne ligand receptora hormonu uwalniającego hormon wzrostu (GHS-R), jest polipeptydem składającym się z 28 aminokwasów. Uwalniana jest w 60-70% z komórek okładzinowych (tzw. X/A-like cells) trzonu i dna żołądka. Grelina działa poprzez swoje receptory. Związana jest z kontrolą równowagi energetycznej przez pobudzanie apetytu, a także oszczędzanie zgromadzonej tkanki tłuszczowej. Ponadto grelina zwiększa wydzielanie kwasu solnego, uwalnianie gastryny, reguluje aktywność motoryczną przewodu pokarmowego. Badania ostatnich lat wskazują, że działa także ochronnie na błony śluzowe żołądka.

*Obestatyna* jest peptydem obecnym w surowicy krwi, głównie produkowanym w błonie śluzowej żołądka. Powstaje, podobnie jak grelina, w ramach wewnątrzkomórkowych przemian potranslacyjnych z preprogreliny. Uważa się, że obestatyna wpływa między innymi na hamowanie pragnienia, hamowanie uwalniania wazopresyny, zmniejszanie lęku i poprawę pamięci oraz pogłębienie snu. W obrębie przewodu pokarmowego wykazano pobudzający wpływ obestatyny na czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki. Ponadto wpływa na opróżnianie żołądkowe i motorykę jelit, a także czynność parakrynną i endokrynną trzustki. Prowadzone w ostatnich latach badania wykazują także, ochronne i lecznicze działanie obestatyny w uszkodzeniach przewodu pokarmowego.

W Zakładzie Fizjologii Klinicznej Katedry Fizjologii Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum, od wielu lat prowadzone są badania nad ochronną rolą różnorodnych czynników w doświadczalnych uszkodzeniach narządów układu pokarmowego. Obejmują one zagadnienia dotyczące między innymi: wpływu greliny i obestatyny na rozwój eksperymentalnych wrzodów błony śluzowej żołądka i dwunastnicy, gojenie owrzodzeń jamy ustnej, przebieg ostrego doświadczalnego zapalenia trzustki.

W tym świetle temat podjęty przez Doktorantkę, którego celem było określenie wpływu podawania peptydów, pochodnych preprogreliny - *greliny i obestatyny* na gojenie i zapobieganie uszkodzeniom błony śluzowej jelita grubego, wywołane podawaniem kwasu octowego, jest bardzo interesujący i aktualny. Stanowi również konsekwentną kontynuację i rozwinięcie ważnego nurtu badawczego. Pod względem formalnym praca obejmuje 70 stron edycji komputerowej z podziałem na typowe rozdziały.

We *Wstępie i teoretycznych podstawach pracy*, mającym wszelkie zalety pracy poglądowej, Doktorantka w sposób zwięzły i treściwy przedstawiła zagadnienia dotyczące ochronnego i leczniczego działania greliny i obestatyny oraz mechanizm ich działania. Rozdział II-gi obejmuje spis publikacji o wysokiej punktacji Impact Factor, wchodzących w skład pracy doktorskiej.

Analiza obecnego stanu wiedzy wykazała sprzeczne dane dotyczące roli greliny i obestatyny w doświadczalnym zapaleniu jelita grubego. Dlatego, Doktorantka sformułowała 5 zadań szczegółowych, uwzględniając, między innym odpowiedzi na pytania:

1. czy podawanie peptydów pochodnych preprogreliny po wywołaniu uszkodzeń błony śluzowej jelita grubego za pomocą kwasu octowego, wpływa na dynamikę gojenia tych uszkodzeń i jaki jest wpływ peptydów pochodnych preprogreliny na odnowę komórkową błony śluzowej jelita grubego,
2. czy podawanie peptydów pochodnych preprogreliny wpływa na lokalny odczyn zapalny w błonie śluzowej jelita grubego i jaki jest wpływ peptydów pochodnych preprogreliny na rozwój stresu oksydacyjnego w przebiegu uszkodzeń błony śluzowej jelita grubego,
3. czy podawanie peptydów pochodnych preprogreliny przed wywołaniem uszkodzeń błony śluzowej jelita grubego za pomocą kwasu octowego wpływa na zahamowanie rozwoju tych uszkodzeń.

Badania, będące podstawą rozprawy doktorskiej są częścią eksperymentów prowadzonych w ramach realizacji dwóch projektów badawczych pt.: „Wpływ greliny na leczenie zapaleń i uszkodzeń narządów przewodu pokarmowego” oraz „Wpływ egzogennej obestatyny na rozwój i przebieg zapaleń jelita grubego”. Zostały przeprowadzone w trzech częściach eksperymentów na szczurach płci męskiej, rasy Wistar. Pierwsza seria badań miała na celu określenie wpływu poprzedzającego podanie greliny na rozwój zapalenia jelita grubego, wywołanego kwasem octowym. Zwierzęta otrzymywały dwukrotnie dootrzewnowo sól fizjologiczną (kontrola) lub grelinę w trzech dawkach. Zapalenie jelita grubego było wywoływane przez doodbytnicze podanie roztworu kwasu octowego. Po otwarciu jamy brzusznej i ekspozycji jelita grubego, badano przepływ krwi przez błonę śluzową tego jelita i mierzono powierzchnię uszkodzeń błony śluzowej..

Druga seria badań miała na celu określenie wpływu poprzedzającego podanie obestatyny na rozwój zapalenia jelita grubego, wywołanego kwasem octowym. Po otwarciu jamy brzusznej i ekspozycji jelita grubego, badano przepływ krwi przez błonę

śluzową tego jelita i mierzono powierzchnię uszkodzeń błony śluzowej. Następnie pobierano wycinki błony śluzowej jelita do badań histologicznych i biochemicznych.

Trzecia seria badań miała na celu określenie wpływu podawania obestatyny na przebieg zapalenia jelita grubego wywołanego kwasem octowym.

W rozdziale *Wyniki badań*, Doktorantka zamieściła omówienie kolejnych etapów swojej pracy, opublikowanych w czasopismach o wysokiej punktacji Impact Factor, wchodzących w skład pracy doktorskiej. Pierwszy etap badań wykazał, że doodbytnicze podanie kwasu octowego wywołuje zapalenie jelita grubego u wszystkich zwierząt. Uszkodzenie ściany jelita było widoczne w ocenie makro- i mikroskopowej. Efektowi temu towarzyszyło zmniejszenie przepływu krwi i biosyntezy DNA w błonie śluzowej jelita grubego. Obserwowany był też, w błonie śluzowej jelita grubego, wzrost stężenia prozapalnej interleukiny-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) i dialdehydu malonowego (MDA) oraz wzrost aktywności mieloperoksydazy i spadek aktywności dysmutazy nadadtlenkowej (SOD). Wcześniejsze podanie greliny zmniejszało powierzchnię uszkodzeń i ich ciężkość. Efektowi temu towarzyszyła poprawa przepływu krwi, biosyntezy DNA i aktywności SOD w błonie śluzowej jelita grubego. Ponadto podanie greliny zmniejszało w błonie śluzowej stężenie IL-1 $\beta$  i MDA oraz aktywność mieloperoksydazy.

Drugi etap badań wykazał, że podobnie, jak w etapie pierwszym, doodbytnicze podanie kwasu octowego, wywołuje zapalenie jelita grubego u wszystkich zwierząt. Widocznemu w ocenie makro- i mikroskopowej uszkodzeniu ściany jelita, towarzyszyło zmniejszenie przepływu krwi i biosyntezy DNA w błonie śluzowej. Obserwowany był też, wzrost stężenia prozapalnej interleukiny-1 $\beta$  oraz wzrost aktywności mieloperoksydazy. Wcześniejsze podanie obestatyny zmniejszało powierzchnię uszkodzeń i ich ciężkość. Efektowi temu towarzyszyła poprawa przepływu krwi i biosyntezy DNA w błonie śluzowej jelita grubego. Ponadto podanie obestatyny zmniejszało w błonie śluzowej stężenie IL-1 $\beta$  oraz aktywność mieloperoksydazy.

Trzeci etap badań wykazał, że błona śluzowa jelita grubego, po wywołaniu zapalenia przy użyciu kwasu octowego, podlega spontanicznemu gojeniu. Podawanie obestatyny przez 6 dni przyspieszało gojenie błony, zmniejszając znamienne statystycznie powierzchnię uszkodzenia ściany jelita grubego. Powodowało również poprawę biosyntezy DNA i przepływu krwi przez błonę śluzową tego jelita. Efektowi temu towarzyszyło zmniejszenie śluzówkowego stężenia IL-1 $\beta$  i aktywności mieloperoksydazy. Podawanie obestatyny przez 13 dni powodowało pełną regenerację

blony śluzowej jelita grubego. Efektowi temu towarzyszyło przywrócenie prawidłowego przepływu krwi przez błonę śluzową i zachodzącej w niej biosyntezy DNA, jak też znamienne zmniejszenie śluzówkowego stężenia IL-1 $\beta$  i aktywności mieloperoksydazy.

Uzyskane, przez Doktorantkę wyniki świadczą o ochronnym i leczniczym wpływie peptydów kodowanych przez gen greliny na rozwój i przebieg zapalenia jelita grubego, w zastosowanym modelu badawczym. Obserwacje te wskazują na potencjalną możliwość zastosowania greliny i obestatyny w leczeniu zapalenia jelita grubego w warunkach klinicznych.

Czytelnik nie ma wątpliwości jaki był zakres badań i zastosowane przez Doktorantkę metody analizy statystycznej.

Na podstawie przeprowadzonych badań wyciągnięto 3 wnioski, znajdujące podstawę w przedstawionych wynikach, znacznie wzbogacając naszą wiedzę na badany temat. Doktorantka wyciągnięte przez siebie wnioski ujmując w podsumowaniu w sposób bardziej syntetyczny, co moim zdaniem jest korzystniejsze. Treść przedstawionego rozdziału potwierdza bardzo dobre i dokładne przygotowanie Doktorantki do podjęcia pracy naukowej. Jest odpowiedzialna i świadoma wartości swojej pracy.

Cytowane piśmiennictwo jest starannie dobrane i pochodzi głównie z ostatnich lat. Rozprawę zamykają publikacje składające się na pracę doktorską oraz oświadczenia współautorów.

Po gruntownym zapoznaniu się z całością pracy, mogę z pełnym przekonaniem stwierdzić, że nie mam żadnych istotnych uwag krytycznych mogących podważyć jej wartość.

Z obowiązku recenzenta zgłaszam drobne uwagi dotyczące błędów literowych, stylistycznych lub wynikających z automatycznej korekty przez program komputerowy. Praca jest napisana przejrzysto, a samo opracowanie wykonane bardzo estetycznie. Dobrze oceniam zarówno koncepcję badań, ich wykonanie, jak i interpretację uzyskanych wyników.

***Podsumowując stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska lek. Aleksandry Matuszyk pt.: „Wpływ podawania peptydów kodowanych przez gen greliny na uszkodzenia błony śluzowej jelita grubego wywołane kwasem octowym” spełnia wszystkie wymagania określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.Nr 65, poz. 595, z późniejszymi***

zmianami) stawiane rozprawom doktorskim. Mam przyjemność wnioskować do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum o dopuszczenie lek. Aleksandry Matuszyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto uważam, że przedstawiona mi do oceny dysertacja doktorska stanowi wkład Doktorantki w zagadnienia związane z poszukiwaniem rozwiązań dotyczących ochronnego i leczniczego działania greliny i obestatyny w eksperymentalnych modelach uszkodzenia błony śluzowej jelita grubego, co zostało docenione w pracach opublikowanych w czasopismach o wysokim Impact Factor. Dlatego wnoszę o wyróżnienie pracy.



*dr hab. n. med. Renata Polaniak*