

Katedra i Zakład Fizjologii
Wydział Nauk Medycznych
w Zabrze
Śląski Uniwersytet
Medyczny
w Katowicach

41-818 Zabrze,
ul. Jordana 19
www.sum.edu.pl

KIEROWNIK
prof. dr hab. n. med. Jerzy Jochem
tel.: (+48 32) 272 23 62

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 272 23 62
fizjocab@sum.edu.pl



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

RECENZJA

rozprawy doktorskiej na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lekarz Justyny Komorowskiej pt.

"Wpływ stężenia glukozy na właściwości przeciwzapalne resweratrolu w obrębie komórek śródbłonkowych i astrocytów – badania in vitro na modelu bariery krew-mózg",

przygotowanej pod kierunkiem Pana prof. dra hab. n. med. Dariusza Szukiewicza (promotora) oraz Pana dra n. med. Mateusza Wątroby (promotora pomocniczego)

z Zakładu Biofizyki, Fizjologii i Patofizjologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. Justyny Komorowskiej porusza ciekawe i potencjalnie istotne z punktu widzenia klinicznego zagadnienie wpływu stężenia glukozy na 1) przepuszczalność bariery krew-mózgowie w modelu *in vitro* oraz 2) działanie przeciwzapalne resweratrolu w tych warunkach. Doktorantka zastosowała w badaniach resweratrol, który jest polifenolową pochodną stylbenu, występującą naturalnie w skórcie czerwonych winogron (skąd pozyskiwany jest na skalę przemysłową), a także w mniejszych ilościach w owocach morwy, czarnej porzeczki czy orzeszkach ziemnych. Wykazuje on właściwości przeciwzapalne, antyoksydacyjne oraz przeciwgrzybicze. Od wielu lat postulowany jest jego współudział, jako składnika czerwonego wina, w wywoływaniu korzyści zdrowotnych wynikających ze stosowania diety śródziemnomorskiej.

Trzon rozprawy stanowią trzy spójne tematycznie publikacje (jedna praca o charakterze przeglądowym oraz dwie publikacje oryginalne) o łącznym IF 11,987 i punktacji MNiSW 380 pkt., w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Poprzedzone zostały one streszczeniami rozprawy w języku polskim i angielskim, wstępem, przedstawieniem celów i założeń pracy, uwzględniającym szczegółowy opis zastosowanych metod badawczych. Kolejnymi rozdziałami rozprawy, po dołączonych kopiach publikacji, jest syntetyczne przedstawienie wyników, wniosków i na koniec – spisu piśmiennictwa złożonego z 60 trafnie dobranych pozycji opublikowanych w ostatnich latach.

Celem badania była ocena wpływu różnych stężeń glukozy (zdaniem recenzenta właściwsze jest używanie określenia „stężenie” niż „poziom”), występujących w stanach normo-, hipo- i hiperglikemii w przestrzeni odpowiadającej naczyniom mikrokrażenia mózgowego na 1) stężenia cytokin prozapalnych w przestrzeni odpowiadającej tkance mózgowej, 2) przepuszczalność bariery krew-mózgowie dla resweratrolu i jego działanie przeciwzapalne, przejawiające się spadkiem stężeń cytokin prozapalnych w przestrzeni odpowiadającej tkance nerwowej.

W pierwszej z prac wchodzących w skład cyklu (praca przeglądowa: Komorowska J, Wątroba M, Szukiewicz D. *Review of beneficial effects of resveratrol in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease*. Adv Med Sci 2020; 65: 415-423), przedstawiono potencjalnie korzystne efekty działania resweratrolu w chorobie Alzheimera na podstawie systematycznego przeglądu badań eksperymentalnych i klinicznych. Autorzy pracy konkludują, że resweratrol może być uznany za skuteczny środek w zapobieganiu rozwojowi choroby Alzheimera.

Badania doświadczalne zostały przeprowadzone w oparciu o skonstruowany model imitujący w warunkach *in vitro* stosunki panujące po obu stronach bariery krew-mózgowie, składający się z dwóch przestrzeni, tj. mikrokrażenia (której powierzchnia pokryta była komórkami śródbłónka) oraz wewnątrzmożgowej (której powierzchnię tworzyły astrocyty). Komercyjnie dostępne linie komórek śródbłónka (hCMEC/D3) i astrocytów były rozdzielone półprzepuszczalną membraną z porami o średnicy 0,4 μm , uniemożliwiającą bezpośredni kontakt pomiędzy oboma rodzajami komórek.

Badania zostały prawidłowo zaplanowane i zrealizowane w trzech grupach, imitujących stany hipoglikemii (stężenie glukozy 2,2 mmol/l), normoglikemii (stężenie glukozy 5,0 mmol/l) oraz hiperglikemii (stężenie glukozy 25 mmol/l). Po okresie inkubacji

(24 h) komórek w warunkach określonego stężenia glukozy dokonano oznaczeń wybranych cytokin, co pozwoliło ocenić, czy stężenie glukozy w przestrzeni odpowiadającej naczyniom mikrokrążenia ma wpływ na różnice w stężeniu cytokin prozapalnych w obrębie przestrzeni odpowiadającej tkance nerwowej. W celu wywołania reakcji zapalnej od strony odpowiadającej tkance nerwowej podawano lipopolisacharyd (0,2 $\mu\text{mol/l}$), a po upływie kolejnych 24 h, do przestrzeni odpowiadającej mikrokrążeniu – resweratrol (50 $\mu\text{mol/l}$). Oceny nasilenia stanu zapalnego dokonano w oparciu o analizę stężeń cytokin 12 i 36 h po podaniu lipopolisacharydu oraz 24 h po podaniu resweratrolu. Ponadto zbadano stężenie resweratrolu po stronie odpowiadającej tkance mózgowej, co pozwoliło na określenie stopnia przepuszczalności bariery krew-mózgowie dla tego związku przy różnych stężeniach glukozy.

W drugiej publikacji z cyklu (Komorowska J, Wątroba M, Bednarzak M, Grabowska AD, Szukiewicz D. *The role of glucose concentration and resveratrol in modulating neuroinflammatory cytokines: insights from an in vitro blood-brain barrier model*. Med Sci Monit 2023; 29: e941044.) wykazano, iż w warunkach niskiego, jak i wysokiego stężenia glukozy w przestrzeni mikrokrążenia dochodzi do wzrostu stężenia IL-10, IL-12, IL-17A, IFN- γ , GM-CSF w przestrzeni neuronalnej w porównaniu do stanu normoglikemii. Resweratrol powodował z kolei obniżenie stężeń wszystkich badanych cytokin w przestrzeni odpowiadającej tkance nerwowej, przy czym efekt był najwyraźniejszy w przypadku zastosowania normoglikemii.

W ostatniej publikacji włączonej do cyklu (Komorowska J, Wątroba M, Bednarzak M, Grabowska AD, Szukiewicz D. *Anti-inflammatory action of resveratrol in the central nervous system in relation to glucose concentration – an in vitro study on a blood-brain barrier model*. Int J Mol Sci 2024; 25: 3110) wykazano, że resweratrol powoduje obniżenie stężeń IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 i IL-8 w przestrzeni odpowiadającej tkance mózgowej niezależnie od stężenia glukozy, jednakże efekt jest najwyraźniej widoczny w stanie normoglikemii. Co więcej, stężenie resweratrolu w przestrzeni odpowiadającej tkance nerwowej było najwyższe w grupie naśladującej stan normoglikemii.

Wnioski pracy są konsekwencją przeglądu piśmiennictwa dotyczącego wpływu resweratrolu na rozwój i przebieg choroby Alzheimera (praca przeglądowa) oraz analizy uzyskanych wyników badań doświadczalnych. Z punktu widzenia potencjalnej przydatności klinicznej za najważniejsze uznałbym stwierdzenia, iż 1) stężenia cytokin prozapalnych w przestrzeni odpowiadającej tkance nerwowej są zależne od stężenia glukozy w przestrzeni

odpowiadającej naczyniom mikrokążenia mózgowego, 2) w warunkach *in vitro* stanowi normoglikemii towarzyszy największy wzrost przepuszczalności bariery krew-mózgowie dla resweratrolu oraz najsilniejszy efekt hamujący wytwarzanie cytokin prozapalnych.

Na zakończenie warto podkreślić, że rozprawa doktorska powstała w oparciu o autorski model bariery krew-mózgowie, który może znaleźć zastosowanie w wielu kolejnych projektach naukowych.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Justyny Komorowskiej pt. *"Wpływ stężenia glukozy na właściwości przeciwzapalne resweratrolu w obrębie komórek śródbłonkowych i astrocytów – badania in vitro na modelu bariery krew-mózg"* spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z powyższym mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Justyny Komorowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto mając na uwadze 1) rozległość i pracowitość przeprowadzonych badań w oparciu o opracowany i stworzony model bariery krew-mózgowie, 2) zastosowanie nowoczesnych metod badawczych oraz 3) znaczenie uzyskanych wyników, mogących mieć w przyszłości zastosowanie kliniczne, wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

Zabrze, dnia 10 grudnia 2024 roku

prof. dr hab. n. med. Jerzy Jochem