



# INSTYTUT WŁÓKNIEN NATURALNYCH I ROŚLIN ZIELARSKICH INSTITUTE OF NATURAL FIBRES & MEDICINAL PLANTS

ul. Wojska Polskiego 71 B, 60-630 Poznań, POLAND phone +48 61 845 58 00 fax +48 61 841 78 30  
e-mail: sekretariat@iwnirz.pl www.iwnirz.pl www.sklep.iwnirz.pl  
KRS 0000321899 NIP 7811830940 REGON 301027411

## Ocena rozprawy doktorskiej pt.

### *„Wpływ dapagliflozyny na wybrane aspekty patomechanizmu przewlekłych powikłań cukrzycy”*

wykonanej przez Panią mgr farm. Agnieszkę Stelmaszyk

w Katedrze i Zakładzie Farmakologii

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Zadaniem współczesnej i nowoczesnej farmakoterapii jest konieczność opracowania, a następnie oceny pod kątem skuteczności oraz bezpieczeństwa szeregu nowych strategii mających na celu zapobieganie chorobom cywilizacyjnym.

Jednym z najważniejszych problemów diabetologicznych, a jednocześnie jednym z najtrudniejszych w całej medycynie początku XXI wieku, jest wzrost zachorowań na cukrzycę typu 2, która dotyczy wielu milionów ludzi na świecie. WHO uznało ją za jedno z najgroźniejszych schorzeń cywilizacyjnych, które może urosnąć do rangi epidemii XXI wieku. Szacuje się, że za 20 lat liczba diabetyków będzie wynosiła nawet 380 mln. Patogeneza cukrzycy typu 2 jest kompleksowa i nie do końca wyjaśniona, jednakże głównym czynnikiem etiologicznym jest oporność komórek na endogenną insulinę. Jak wykazano, cukrzyca typu 2 jest przyczyną przedwczesnej umieralności, przede wszystkim sercowo-naczyniowej, oraz powikłań wiodących do ślepoty, amputacji kończyn i niewydolności nerek. Farmakoterapia cukrzycy stanowi jedną z podstawowych metod leczenia tego schorzenia, dlatego istotne jest aby leki

Bank Account:  
Getin Noble Bank S.A.  
ul. Przyokopowa 33; 01-208 Warszawa  
PL 60 1560 0013 2895 4995 5000 0001

**ISO 9001:2008**  
Quality Management Systems  
**ISO 22000:2005**  
Food Safety Management Systems  
**Certyfikat GMP**  
Dobra Praktyka Wytwarzania



Bank Account:  
Wielkopolski Bank Spółdzielczy  
II O/Poznań  
39 9068 1013 0000 0000 0022  
3842

przeciwhiperglykemiczne zmniejszały również ryzyko rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy i progresję schorzenia.

Autorka pracy Pani mgr farm. Agnieszka Stelmaszyk słusznie podkreśla, iż istotnym problemem współczesnej farmakoterapii cukrzycy jest zagadnienie związane pośrednim i bezpośrednim oddziaływaniem leków stosowanych w leczeniu tego schorzenia na rozwój przewlekłych powikłań cukrzycy, zwłaszcza powstających na podłożu makroangiopatii, stanowiących często przyczynę zgonów wśród chorych na cukrzycę. Zwraca uwagę, iż wpływ leku przeciwcukrzycowego – dapagliflozyny, stosunkowo niedawno wprowadzonego do lecznictwa, na rozwój przewlekłych powikłań cukrzycy jak i na progresję insulinooporności obwodowej oraz dysfunkcji komórek  $\beta$  wysp trzustkowych nie zastał jeszcze jednoznacznie wyjaśniony. Dlatego podjęcie przez Panią mgr Agnieszkę Stelmaszyk badań mających na celu ocenę bezpośredniego i pośredniego potencjału działania dapagliflozyny na wczesne fazy rozwoju powikłań w układzie sercowo-naczyniowym z wykorzystaniem modelu zwierzęcego jest w pełni uzasadnione z punktu widzenia terapeutycznego jak i możliwości niwelowania powikłań naczyniowych już na bardzo wczesnym etapie choroby.

Treść przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej liczącej 107 stron, zawierającej 10 tabel i 16 rycin odpowiada tematowi określoneemu w tytule, jak również tytułom poszczególnych rozdziałów i podrozdziałów.

We wstępie, stanowiącym część teoretyczną pracy, Pani mgr Agnieszka Stelmaszyk omówiła w sposób świadczący o dużej wiedzy dotyczącej przedmiotu swoich zainteresowań badawczych zagadnienia związane z patogenezą cukrzycy i jej wpływu na śródbłonek naczyń, ponieważ towarzysząca hiperglikemia i insulinooporność zaliczane są do czynników inicjujących rozwój blaszki miażdżycowej. Omówiła rolę cytokiny TGF- $\beta$  w rozwoju makroangiopatii i blaszek miażdżycowych oraz jej wpływ na funkcjonowanie hepatocytów. Dokładnie przestawiła efekt działania czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego VEGF jako elementu patogenezy miażdżycy. Scharakteryzowała działanie farmakologiczne dapagliflozyny stosowanej w leczenie cukrzycy, pozwalając tym samym na lepsze zrozumienie omawianego tematu podjętego w rozprawie doktorskiej. We wstępie Autorka także scharakteryzowała wybrane regulatory epigenetyczne związane z rozwojem miażdżycy i insulinooporności obwodowej z uwzględnieniem sirtuiny 1 modulującej działanie czynników transkrypcyjnych i białek enzymatycznych oraz omówiła wykładniki stanu śródbłonka

naczyniowego w oparciu o liczbę krążących komórek śródbłonka i krążących progenitorowych komórek śródbłonka.

Ponadto, układ prezentowanego wstępu z wyszczególnionymi podrozdziałami, napisany w oparciu o przegląd odpowiednio dobranych pozycji piśmiennictwa dobrze wprowadza czytelnika w zagadnienia będące przedmiotem badań i uzasadnia naukowe założenia Autorki.

W doświadczeniu wykorzystano model zwierzęcy szczury rasy Wistar. Oceniono ekspresję VEGF i TGF- $\beta$  w analizowanych tkankach z wykorzystaniem techniki real-time PCR oraz stężenie ich produktu białkowego w surowicy metodą ELISA. Oznaczenie ekspresji sirtuiny 1 i kontransportera sodowo-glukozowego 2 (SGLT2) wykonano za pomocą metody Western blot. Określono również dystrybucję komórek śródbłonka i progenitorowych komórek śródbłonka stosując metodę cytometrii przepływowej.

W aspekcie wykonawczym praca zasługuje na bardzo duże uznanie. Doktorantka precyzyjnie zaplanowała i przeprowadziła badania z zastosowaniem wielu metod m.in. wykorzystując real-time PCR, ELISA, Western-blot czy metodę cytometrii przepływowej. Wszystkie procedury postępowania zostały dokładnie opisane. Wykonano serię pracochłonnych analiz, które wymagały nie tylko wiedzy teoretycznej, ale także umiejętności manualnych. W pracy Autorka z dużą swobodą, świadczącą o doskonałym opanowaniu warsztatu badawczego, posługuje się precyzyjnymi metodami pomiaru poziomu mRNA, ilości białka czy dokonuje oceny z pobranego materiału odsetek komórek śródbłonka i progenitorowych komórek śródbłonka z wykorzystaniem odpowiedniej techniki.

Wyniki badań prezentowane przez Panią mgr Agnieszkę Stelmaszyk zostały przedstawione w sposób uporządkowany i precyzyjny. Doktorantka dowiodła, że dapagliflozyna - lek stosowany w leczeniu cukrzycy posiada istotny potencjał w zakresie ograniczenia rozwoju progresji i powikłań cukrzycy. W związku z powyższym faktem, rezultaty otrzymane w niniejszej rozprawie doktorskiej przez Panią mgr Agnieszkę Stelmaszyk dostarczają interesujących informacji dotyczących korzystnego działania dapagliflozyny na komórki śródbłonka naczyniowego, oraz możliwy korzystny, proangiogeny jej wpływ na komórki mięśnia sercowego jak również na możliwość udziału dapagliflozyny w zwiększeniu zdolności regeneracji hepatocytów.

W omówieniu Pani mgr Agnieszka Stelmaszyk w sposób inteligentny i rzeczowy podejmuje dyskusję ze znanymi z piśmiennictwa faktami w odniesieniu do własnych

badania. Dyskusja przeprowadzona jest w sposób wnikliwy, co świadczy o dużej wiedzy naukowej Doktorantki.

Należy podkreślić również, iż wykonana praca przez Panią mgr Agnieszkę Stelmaszyk świadczy o umiejętności rzetelnego przeprowadzania prac doświadczalnych, a wyniki badań zakończone słusznymi wnioskami dostarczają interesujących informacji i wskazówek do dalszych badań doświadczalnych i klinicznych celem wyjaśnienia wciąż istniejących niejasności.

Praca została napisana językiem poprawnym i zrozumiałym. Autorka korzystała w większości z aktualnego, światowego piśmiennictwa obejmującego 131 pozycji. Zalety prezentowanej rozprawy, wśród których można wymienić dobór interesującej i aktualnej tematyki badawczej i zastosowanie poprawnej metodyki oraz kompetentną dyskusję właściwie opracowanych wyników, pozwalających na sformułowanie adekwatnych wniosków, świadczą o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Jednakże pragnę zwrócić uwagę, iż podczas czytania rozprawy doktorskiej w rozdziale bibliografia: pozycje 50, 53, 66 wymagają ujednoczenia tekstu, jednocześnie podkreślając fakt, iż ten aspekt nie umniejsza walorów recenzowanej rozprawy.

Podsumowując ocenę pracy doktorskiej uważam, że prezentuje ona wysoki poziom merytoryczny i odpowiada w pełni wymogom stawianym wobec rozpraw doktorskich.

**Zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr farm. Agnieszki Stelmaszyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Poznań, 30.10.2018

p.o. Kierownik  
Zakładu Farmakologii i Fitochemii  
dr hab. n. med. Anna Bogacz  
prof. nadzw. IWNiRZ