

Kraków, dnia 5 września 2023

Prof. dr hab. Ewa Cieślik
Katedra Technologii Produktów
Roślinnych i Higieny Żywności
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Michała Kurka

pt. „Ocena przeciwcukrzycowego potencjału glikozydów stewiolowych, indywidualnie i we współdziałaniu z L-argininą i chromem(III) w badaniach modelowych *in vitro* i *in vivo*”.

Podstawa prawna: pismo Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Pani prof. dr hab. Magdaleny Rudzińskiej z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z dnia 4 lipca, 2023 r.)

1. Podstawowe dane o kandydacie

Zgodnie z załączoną dokumentacją Pan mgr Jakub Michał Kurek uzyskał tytuł magistra dietetyki w dniu 29.06 2018 r., który był nadany przez Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu. W latach 2018/19-2022/23 zrealizował program kształcenia na Stacjonarnych Studiach Doktoranckich przy Wydziale Technologii Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Doświadczenie zawodowe zdobywał od 2017 roku, najpierw jako praktykant dietetyk w firmie Olandia, a następnie jako stażysta w Quantum Sp. o.o. Od 2019 roku do chwili obecnej jest zatrudniony na stanowisku pracownika naukowo-technicznego w Katedrze Żywnienia i Dietetyki, UP w Poznaniu. Na podkreślenie zasługują osiągnięcia naukowe Kandydata, a także doświadczenie w zakresie zdobywania dofinansowania realizowanych projektów. Jest On współautorem 5 publikacji w czasopismach naukowych znajdujących się w bazie JCR o łącznym IF wynoszącym 26,564 oraz 17 doniesień na krajowe i międzynarodowe konferencje.

2. Ogólna charakterystyka rozprawy

Przedłożona do recenzji praca doktorska została napisana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Zbigniewa Krejpcio w Katedrze Żywienia Człowieka i Dietetyki w Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. Badania realizowane w pracy doktorskiej zostały wykonane w ramach projektu badawczego OPUS, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (Nr 2017/27/B/NZ9/00677).

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana Jakuba Michała Kurka pt. „Ocena przeciwcukrzycowego potencjału glikozydów stewiolowych, indywidualnie i we współdziałaniu z L-argininą i chromem(III) w badaniach modelowych *in vitro* i *in vivo*”, jest zbiorem 3 opublikowanych prac.

W publikacji pierwszej przedstawiono wyniki badań *in vitro*, w których udowodniono, że glikozydy stewiolowe (stewiozyd, rebaudiozyd A) i steviol mają istotny wpływ na proces wchłaniania glukozy, adipogenezę i lipogenezę oraz insulinooporność w adipocytach linii komórkowej 3T3-L1, przy czym efekty te zależą od rodzaju i stężenia badanych związków. Uzyskane wyniki porównano z wynikami innych autorów i przedyskutowano, a następnie opublikowano w Journal of Functional Foods, (IF= 5,22).

W kolejnej pracy zaprezentowano wyniki badań *in vivo*, w których wykazano, że glikozydy stewiolowe poprawiają stan zdrowia szczurów z wywołaną cukrzycą typu 2. Zaobserwowano silne efekty normalizujące w odniesieniu do gospodarki lipidowej, które zależały od dawki glikozydu – Nutrients, (IF= 5,72).

W pracy trzeciej opublikowanej w Pharmaceuticals, (IF= 5,21) zawierającej wyniki kolejnego badania modelowego z udziałem szczurów stwierdzono, że dodatek L-argininy i/lub chromu(III) do diety szczurów z wywołaną cukrzycą typu 2 wzmacnia potencjał przeciwcukrzycowy glikozydów stewiolowych. Uwydatnił się on w warunkach łagodnej hiperglikemii przez korzystny wpływ na poziom glukozy we krwi. Przy czym silniejsze efekty w obecności L-argininy i/lub chromu(III) wykazano w przypadku stewiozydu. Doceniam i podkreślam kompleksowość badań dotyczących uwzględnienia w koncepcji projektu współdziałanie glikozydów stewiolowych z L-argininą i/lub chromem(III). Wykorzystanie substancji wpływających na metabolizm węglowodanów i lipidów, wykazujących terapeutyczny wpływ w przebiegu m. in. hipercholesterolemii, cukrzycy typu 2, a także poprawę wrażliwości na insulinę, zwiększenie tolerancji glukozy, zmniejszenie stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego może znaleźć praktyczne zastosowanie uzyskanych wyników.

Wymienione publikacje wchodzące w skład cyklu pracy doktorskiej stanowią ważny przyczynek do wiedzy w zakresie potencjału przeciwcukrzycowego i prozdrowotnych

właściwości glikozydów stewiolowych. Wyniki przeprowadzonych badań modelowych potwierdzają ich potencjał przeciwcukrzycowy, co może być istotne dla ewentualnego ich wykorzystania do wspomagania leczenia zaburzeń metabolicznych występujących w cukrzycy typu 2.

3. Ocena szczegółowa pracy

Poszukiwanie coraz lepszych strategii leczenia cukrzycy jest obecnie jednym z największych wyzwań dla specjalistów zajmujących się tym zagadnieniem, gdyż brakuje leków łączących w sobie wysokie bezpieczeństwo stosowania, niskie koszty terapii oraz skuteczność działania. Cukrzyca typu 2 jest chorobą przewlekłą, charakteryzującą się utrzymującym się wysokim poziomem glukozy we krwi, prowadzącą do rozwoju wielu powikłań zdrowotnych. Poszukiwania nowych substancji mogących wspomagać leczenie cukrzycy, m.in. wśród źródeł roślinnych są uzasadnione. Jedną z takich roślin jest stewia (*Stevia rebaudiana Bertoni*), której glikozydy są obecnie przedmiotem wielu badań. Potencjał przeciwcukrzycowy preparatów stewii jest szeroko opisywany w badaniach na różnych modelach doświadczalnych. Tymczasem doniesień literaturowych dotyczących interaktywnego działania glikozydów stewiolowych oraz L-argininy i Cr(III) jest niewiele, a ich wyniki nie zawsze są jednoznaczne. W tym aspekcie chciałabym podkreślić wykorzystanie dotychczasowych wyników badań dotyczących odmiennych mechanizmów przeciwcukrzycowego działania preparatów stewii, L-argininy i Cr(III) w celu zrealizowania projektu, tym bardziej, że w naszym kraju nie prowadzono dotąd takich kompleksowych badań, a niejednoznaczne wyniki uzyskane za granicą są nieliczne.

W ocenie przedłożonej rozprawy (która oprócz kopi omówionych powyżej publikacji zawiera 73 strony tekstu) nadmieniam, że załączone omówienie źródłowych prac eksperymentalnych tworzy zwartą całość i odpowiada typowemu układowi pracy doktorskiej. Struktura rozprawy jest logiczna i przejrzysta, a także odpowiada realizowanym celom i zagadnieniom badawczym. Zawiera 6 właściwych dla pracy doktorskiej rozdziałów poprzedzonych starannie i przejrzysto wykonanym streszczeniem.

We wstępie mgr Jakub M. Kurek nawiązał do najnowszych, zagranicznych pozycji piśmiennictwa związanych bezpośrednio z przedmiotem rozprawy. Doceniam wysiłek Autora, który zadał sobie trud dokonania syntetycznego w mojej opinii wyczerpującego przeglądu prac poświęconych charakterystyce cukrzycy, walorom prozdrowotnym glikozydów stewiolowych i właściwościom L-argininy oraz chromu(III).

Cel pracy został sformułowany prawidłowo, jest zgodny z tytułem i łączy się w logiczną całość z wcześniejszym rozdziałem. Autor przedstawił główny cel badawczy rozprawy, a następnie cele szczegółowe oraz hipotezy badawcze.

W rozdziale materiały i metody badawcze Autor opisał materiał badawczy, analizowane związki, metody i procedury badawcze. Rozdział ten został podzielony na 2 podrozdziały: badania *in vitro*, i *in vivo* (dwa doświadczenia żywieniowe z udziałem szczurów) oraz analizę statystyczną wyników. Przedstawiony został tu zakres kluczowych działań badawczych, szczegółowo omówionych w załączonych publikacjach. Materiały i metody zostały prawidłowo zaprezentowane:

- 1) stosując różne procedury doświadczalne przeprowadzono różnicowanie adipocytów, testy żywotności komórek, pomiar zawartości lipidów wewnątrzkomórkowych, izolację RNA i analizę ekspresji genów oraz pomiar wychwyty glukozy w adipocytach;
- 2) zgodnie ze schematem 1 (str. 31) przeprowadzono doświadczenie biologiczne z udziałem szczurów laboratoryjnych, u których wywołano cukrzycę typu 2. Następnie przy użyciu nowoczesnych metod wykonano analizę parametrów biochemicznych krwi badając łącznie 18 różnych wskaźników, m.in. poziom aminotransferazy alaninowej, aminotransferazy asparaginowej, mocznika, kreatyniny, glukozy, białka całkowitego, TG, kwasu moczowego, frakcji cholestereolu, insuliny, greliny, leptyny, adiponektyny oraz aktywność peroksydazy glutationowej i katalazy. Ponadto w badaniach histopatologicznych oceniono narządy (wątroba, trzustka i nerka).
- 3) doświadczenie 2 (str. 33) przeprowadzono stosując dietę, w której oprócz preparatów stewiolowych dodano L-argininy i/lub chrom(III). Analiza parametrów biochemicznych krwi dotyczyła tych samych powyżej wymienionych wskaźników, a w badaniach histopatologicznych narządów (wątroba, trzustka i nerka) oznaczono dodatkowo zawartość chromu. Wszystkie uzyskane wyniki badań zostały poddane analizie statystycznej.

W następnym rozdziale opracowania przedstawiono wyniki i dyskusję. Należy podkreślić, że Doktorant obszernie przedyskutował uzyskane wyniki z rezultatami uzyskanymi przez innych autorów, co świadczy o jego wiedzy i umiejętności krytycznej interpretacji zachodzących przemian. Autor umiejętnie i wyczerpująco przedstawił swoje obserwacje w ramach kolejnych zadań badawczych.

W rozdziale podsumowanie sformułowano wnioski z poszczególnych 3 doświadczeń biologicznych, w których udowodniono weryfikację postawionych hipotez badawczych.

Uważam, że wnioski te były prezentowane wcześniej, po omówieniu wyników każdego doświadczenia, a także zawarte w publikacjach, więc można było tego uniknąć, tym bardziej, że rozdział zakończono podrozdziałem wnioski końcowe. Ich sformułowanie i syntetyczny przekaz zakończony zaleceniem dalszych badań klinicznych z udziałem ludzi świadczy o ambicjach młodego naukowca, a także o jego dalszych planach.

Oceniając piśmiennictwo odnotowuję właściwy dobór cytowanych pozycji. Wykaz literatury obejmuje 216 pozycji, przy czym pozycje obcojęzyczne stanowią znakomitą większość. Na uwagę zasługuje fakt, że Doktorant wiele uwagi poświęcił aktualności piśmiennictwa. W pracy wykorzystano najnowsze pozycje z ostatnich 5 lat.

4. Ocena strony formalnej pracy

Podsumowując niniejszą recenzję wyrażam pogląd, że pomimo nielicznych uchybień redakcyjnych i skrótów myślowych (np. str. 21, 22, 30) merytoryczne kryteria oceny pracy pozwalają w pełni stwierdzić bardzo dobre przygotowanie Doktoranta do prowadzenia prac badawczych, począwszy od znajomości przedmiotu oraz warsztatu badań, a skończywszy na umiejętności formułowania logicznych wniosków w oparciu o uzyskane wyniki. Zdaniem recenzenta rozdział metodyczny pracy został bardzo dobrze opracowany. Już na samym początku przedstawiono informacje dotyczące głównego celu rozprawy, postawionych hipotez badawczych i zakresu podmiotowego, a także opis procedur badawczych i wykorzystania metod badawczych.

5. Wnioski końcowe

W przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej mgr Jacka Michała Kurka pt. „Ocena przeciwcukrzycowego potencjału glikozydów stewiolowych, indywidualnie i we współdziałaniu z L-argininą i chromem(III) w badaniach modelowych *in vitro* i *in vivo*” zrealizowano istotny z punktu widzenia badawczego temat. Zagadnienie podjęte w projekcie jest bardzo aktualne, zwłaszcza w świetle współczesnego spojrzenia na czynniki powodujące insulinooporność oraz ciągle wzrastającą liczbę osób chorych na cukrzycę typu 2.

Oryginalnym aspektem badań jest ocena potencjału przeciwcukrzycowego glikozydów stewiolowych w połączeniu z L-argininą i Cr(III), rozumianego jako efekt hipoglikemiczny, hipolipidemiczny i/lub antyoksydacyjny u szczurów doświadczalnych z wywołaną cukrzycą typu 2.

6. Uzasadnienie wyróżnienia

Ze względu na fakt, że praca istotnie przekracza średni poziom prac doktorskich pod względem ważności rozwiązywanego problemu, a także jakości i zakresu wykonanych badań, w tym pracochłonności przeprowadzonych doświadczeń biologicznych z udziałem zwierząt laboratoryjnych, wnioskuję o jej wyróżnienie. Wysoko oceniam formę prezentacji uzyskanych wyników oraz ich dyskusję. Ponadto kompetencje Kandydata zostały potwierdzone poprzez opublikowanie wyników uzyskanych w ramach pracy w trzech publikacjach naukowych w czasopiśmie z listy JCR, w których Doktorant jest pierwszym współautorem. Sumaryczny Impact Factor według bazy JCR wynosi 12,676.

Zgodnie z zapisem w Rozporządzeniu Ministra Szkolnictwa Wyższego i Nauki z dnia 20 lipca 2018 roku zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Technologia Żywności i Żywnienia Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie mgr Jacka Michała Kurka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

E. Cieślak