



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

KATEDRA I ZAKŁAD TOKSYKOLOGII
LABORATORIUM BADAŃ ŚRODOWISKOWYCH

ul. Dojazd 30
60-631 Poznań
e-mail: eflorek@ump.edu.pl

tel. 61 847 20 81
faks 61 847 20 81 w. 157

Prof. dr hab. Ewa Florek
Kierownik
Laboratorium Badań Środowiskowych
Katedry i Zakładu Toksykologii
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Poznań, 4 maja 2020 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej

pt. „Wpływ zmodyfikowanej diety matki w czasie ciąży i laktacji na fenotyp potomstwa i ryzyko uzależnienia od kokainy – potencjalna rola receptorów melanokortynowych typu 4 w mózgu szczurów”

mgr Dawida Gawlińskiego
wykonanej w Zakładzie Farmakologii Uzależnień Instytutu Farmakologii im.
Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie
pod kierunkiem
prof. dr hab. Małgorzaty Filip

Nieprawidłowe odżywianie czy stosowanie określonych diet przez matkę w okresie ciąży i laktacji ma wpływ na rozwój płodu, a także zwiększa ryzyko chorób dziecka już od pierwszych dni życia. Liczne badania podkreślają, że mózg rozwija się najbardziej przez pierwsze lata życia, dlatego również odpowiednia dieta jest niezwykle istotna dla początku życia dziecka. Coraz częściej dostrzegane są nadpobudliwość psychoruchowa, deficyty uwagi, impulsywność oraz zaburzenia emocjonalne, które mogą inicjować także rozwój zależności od substancji psychoaktywnych. Nadal za mało uwagi poświęca się biochemii odżywiania w jej relacji do funkcji fizjologicznych, a w szczególności funkcjonowania neuroprzekaźników.

Aktualnie badania eksperymentalne wykazały wpływ diety matki na podatność młodych dorosłych zwierząt jedynie na alkohol, nikotynę lub smaczny, lecz niezdrowy pokarm. Nadal jednak brakuje danych dotyczących zależności między składem diety matki a rozwojem u potomstwa uzależnienia od kokainy.

Celem recenzowanej pracy doktorskiej było określenie roli wysokotłuszczowej (HFD), wysokowęglowodanowej (HCD) i mieszanej (MD) diety w okresie ciąży i laktacji samic szczurów na zmiany fenotypu potomstwa obu płci w kontekście uzależnienia od kokainy.

Podjęcie zaproponowanej tematyki badawczej przez Doktoranta wydaje się być w pełni uzasadnione nie tylko ze względu na brak danych w piśmiennictwie dotyczących zależności między składem diety matki a rozwojem u potomstwa uzależnienia od kokainy, ale i brakującą ocenę potencjalnego udziału receptorów MC-4 w mechanizmach mogących leżeć u podłoża fenotypu podatnego na kokainę. Uważam, że temat podjętej rozprawy doktorskiej jest nowatorski, a pracę należy uznać za oryginalną.

Na podkreślenie zasługuje również fakt, że badania realizowane przez Doktoranta były finansowane w ramach grantu badawczego OPUS 11 z Narodowego Centrum Nauki w Krakowie. Świadczy to, że tematyka pracy jest aktualna i niezwykle istotna szczególnie w odniesieniu do ciąży i laktacji.

Rozprawa liczy 145 stron, zawiera 7 tabel i 26 rysunków. Układ pracy jest bardzo przejrzysty. Praca podzielona jest na dziewięć rozdziałów, w tym *Piśmiennictwo* oraz *Streszczenie* w języku polskim i angielskim. Autor na wstępie zamieścił *Wykaz zastosowanych skrótów*, a w końcowej części *Spis tabel i rysunków*.

Układ dysertacji jest typowy, Doktorant przedstawia *Wstęp* obejmujący część teoretyczną, prezentuje *Cel pracy*, sposób jego osiągnięcia dzięki zastosowanym *Materiałom i metodom* badawczym, uzyskane *Wyniki*, ich *Dyskusję* oraz *Wnioski*. Praca zawiera wszystkie wymagane elementy stawiane takim opracowaniom. Dysertacja doktorska jest napisana zwięzłym i poprawnym językiem z zastosowaniem prawidłowej nomenklatury.

Wybór tematu został bardzo dobrze uzasadniony we *Wstępie* wprowadzając tym samym czytelnika w tematykę rozprawy. Doktorant zaprezentował koncepcję zdrowia i

choroby na przełomie XX i XXI wieku, na podstawie piśmiennictwa z ostatniego dwudziestolecia dokonał oceny wpływu diety matki na rozwój zaburzeń mózgu u potomstwa. Mgr D. Gawliński przedstawił aktualny stan wiedzy na temat uzależnienia od substancji psychoaktywnych, w tym od kokainy, a bardzo istotną częścią *Wstępu* jest opis układu melanokortynowego wraz z jego receptorami i roli receptorów MC-4 w uzależnieniach. W tym miejscu należy pochwalić Doktoranta nie tylko za logiczny układ tej części pracy, ale i wyczerpujące udokumentowanie przedstawianych informacji. Wysoko oceniam umiejętność korzystania mgr Dawida Gawlińskiego z aktualnego piśmiennictwa, które cytowane jest zgodnie z wymogami. Zaprezentowane dane stanowią doskonale opracowaną podstawę teoretyczną do sformułowania celu dysertacji i wyboru metod badawczych dla jego realizacji. Świadczy to o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym i metodologicznym Autora.

Do osiągnięcia zamierzonego celu Autor uznał za niezbędne: 1. Kompleksową charakterystykę wpływu zmodyfikowanej diety matki na zmiany fenotypu potomstwa ocenianego na poziomie behawioralnym na różnych etapach uzależnienia, 2. Ocenę roli modyfikacji dietetycznych w okresie ciąży i laktacji na zmiany ekspresji białka receptorów MC-4 w wybranych strukturach mózgu oraz obwodowych parametrów biochemicznych krwi u potomstwa obu płci, 3. Zbadanie wpływu samopodawania kokainy oraz okresu odstawienia od substancji uzależniającej na zmiany w ekspresji białka receptorów MC-4 w wybranych strukturach mózgu samców – potomstwa matek spożywających dietę kontrolną lub HCD, 4. Ocenę roli receptorów MC-4 w nawrotach zachowań poszukiwawczych kokainy ww. samców.

Opis części badawczej rozpoczyna rozdział *Materiały i metody*, w którym szczegółowo Autor zaprezentował: 1. Zwierzęta doświadczalne, 2. Podawane substancje, 3. Badania behawioralne, 4. Badania neurochemiczne w mózgu szczurów oraz 5. Analizę parametrów metabolicznych w surowicy krwi szczurów. Rozdział kończy opis zastosowanych testów statystycznych do oceny wyników eksperymentów. Na podkreślenie, a zarazem pochwałę zasługuje niezwykle staranna ilustracja graficzna dotycząca poszczególnych etapów eksperymentów – 4 schematy i jedna tabela, pozwalające na szybki wgląd w procedury badawcze.

Eksperyment i pomiary zostały zaplanowane w sposób prawidłowy i poprawnie przeprowadzone. Istotne znaczenie w realizacji tematu miał dobór modelu badań

behawioralnych. Ten wybór był podyktowany koniecznością: 1. Dożylnego samopodawania kokainy zgodnie z opracowanymi procedurami, 2. Chirurgicznej implantacji kateteru, 3. Treningu zwierząt, 4. Wygaszania reakcji instrumentalnej i 5. Nawrotu zachowań poszukiwawczych kokainy. Zaproponowany model eksperymentalny jest nie lada wyzwaniem dla młodego badacza, z czym Doktorant doskonale dał sobie radę.

Zaprezentowany warsztat badawczy zarówno ten dotyczący eksperymentów na zwierzętach, jak i analityczny świadczy o światowym poziomie badań wykonywanych przez mgr Dawida Gawlińskiego pod kierunkiem Promotora - Pani prof. dr hab. Małgorzaty Filip i jest jednocześnie gwarancją bardzo dobrego opublikowania wyników pracy.

Rozdział opisujący *Wyniki* rozpoczyna się od przedstawienia wpływu zmodyfikowanej diety matki w okresie ciąży i laktacji na zmiany parametrów fizjologicznych potomstwa, tj. masy ciała, parametrów metabolicznych w surowicy krwi, ekspresji receptorów MC-4 w mózgu i aktywności lokomotorycznej. W dalszej części mgr D. Gawliński prezentuje wyniki wpływu tej diety na potomstwo podczas nabywania i podtrzymywania nałogu kokainowego. Z kolei dwa kolejne podrozdziały wyników badań dotyczą wpływu dożylnego samopodawania kokainy na ekspresję receptorów MC-4 w mózgu męskiego potomstwa matek spożywających w okresie ciąży i laktacji dietę kontrolną i wysokowęglowodanową oraz wpływu antagonisty receptorów MC-4 na nawrót zachowań poszukiwawczych kokainy u męskiego potomstwa tych matek. Doktorant z niezwykłą dokładnością i rzetelnością omówił wyniki swoich badań, a całość została szeroko zilustrowana 5 tabelami i 20 rycinami, co pozwala czytelnikowi na szybki wgląd w najważniejsze dane. Podstawą interpretacji tak dużej liczby wyników była prawidłowo przeprowadzona analiza statystyczna.

Wyniki recenzowanej pracy podkreślają, że narażenie w okresie prenatalnym i postnatalnym na nieodpowiednio zbilansowaną dietę matki zaburza prawidłowy rozwój płodu i potomstwa, prowadząc do rozwoju chorób metabolicznych w okresie wczesnej dorosłości, a nawet do zaburzeń prawidłowej funkcji ośrodkowego układu nerwowego. Autor wykazał, że antagonisty receptorów MC-4 zmniejsza nawrót zachowań poszukiwawczych kokainy u zwierząt kontrolnych i u potomstwa eksponowanego pre- i postnatalnie na matczyną dietę wysokotłuszczową wskazując tym samym możliwość wykorzystania receptorów MC-4 jako nowego celu dla projektowania leków minimalizujących prawdopodobieństwo nawrotu uzależnienia od kokainy, co uważam za niezwykle osiągnięcie naukowe Doktoranta.

Bardzo dobrze oceniam umiejętność przejrzystego podsumowania i interpretacji wyników badań. Mgr D. Gawliński rzeczowo przeprowadził *Dyskusję* (19 stron) własnych wyników badań na tle aktualnego piśmiennictwa – 303 pozycje, wykorzystanego w sposób celowy i właściwy. Dyskusja jest najbardziej dowolną i najbardziej autorską częścią pracy, oceniam ją celująco.

Badania zostały podsumowane pięcioma wnioskami uzyskanymi z wyników i uogólnieniami z przeprowadzonej dyskusji. Wniosek piąty wydaje się być niezwykle cennym w perspektywie projektowania nowych leków mających zapobiegać ponownemu użyciu kokainy u osób uzależnionych.

Merytoryczną wartość rozprawy doktorskiej mgr Dawida Gawlińskiego oceniam bardzo wysoko. Niewątpliwym osiągnięciem Autora są wyniki badań wykazujące na udział diety matki podczas ciąży i laktacji w prawidłowym rozwoju potomstwa w dorosłym życiu. Dostarczanie nadmiernych ilości makroskładników, takich jak tłuszcze czy węglowodany zarówno podczas rozwoju wewnątrzmacicznego i wczesnego dzieciństwa może prowadzić do zaburzeń parametrów metabolicznych krwi i neurochemicznych w obrębie układu melanokortynowego – receptory MC-4. Doktorant wykazał istotną rolę receptorów MC-4 w zachowaniach związanych z poszukiwaniem kokainy, po podaniu antagonisty tych receptorów następowało zmniejszenie siły nawrotu. Stąd receptory MC-4 mogą być ważnym biomarkerem zachowań poszukiwawczych kokainy i co najważniejsze – potencjalnym celem projektowania nowych leków mających zapobiegać ponownemu użyciu kokainy u osób uzależnionych. Zaobserwowane przez Autora różnice w fenotypie potomstwa obu płci potwierdzają istotność prowadzenia badań przedklinicznych na samcach i samicach, co może przyczynić się do lepszego zrozumienia różnic w patomechanizmach chorób zależnych od płci i promować medycynę spersonalizowaną.

Treść pracy została starannie wyselekcjonowana. Układ rozprawy jest przejrzysty, a dyskusja rzeczowa. Wykazanie pewnych luk na obecnym poziomie wiedzy tłumaczy celowość podjętych badań, a tym samym podnosi wartość zaprezentowanych wyników.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Autora w dziedzinie nauk medycznych, stroną merytoryczną oceniam bardzo dobrze. Praca potwierdza również bardzo dobre kwalifikacje Doktoranta, Jego kompetencje, wiedzę i zdolności eksperymentatorskie.

Praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Wyczerpuje to wymagania określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym stawiam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Dawida Gawlińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wobec wysokiego poziomu przeprowadzonych badań posiadających szczególne walory poznawcze, a także oryginalności zastosowanych narzędzi i metod badawczych wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Praca posiada niezaprzeczalne elementy nowości. Jest to interesujące studium świadczące o bardzo dobrym przygotowaniu Autora do samodzielnej pracy naukowej.

Mgr Dawid Gawliński jest także współautorem dwóch prac przyjętych do druku w czasopiśmie: *Nutrition Review*, 2020 (drugi autor) oraz *FASEB Journal*, 2020 (pierwszy autor - *Maternal high-sugar diet changes offspring vulnerability to reinstatement of cocaine-seeking behavior: role of melanocortin-4 receptors*). Kolejny manuskrypt z pierwszym autorstwem mgr D. Gawlińskiego zatytułowany *Maternal diet during pregnancy and lactation influence on reinstatement of cocaine-seeking behavior and the expression of melanocortin-4 receptors in female rat offspring* został wysłany do *Nutrients*, otrzymał pozytywne recenzje i oczekuje na informację z redakcji.

W podsumowaniu uważam, że bardzo wysoki poziom rozprawy doktorskiej mgr Dawida Gawlińskiego upoważnia mnie do postawienia wniosku o wyróżnienie pracy.

KIEROWNIK
Laboratorium Badań Środowiskowych

prof. dr hab. Ewa Florek