

Kielce, 27.02.2023

Dr hab. Michał Arabski  
Zakład Biologii Medycznej  
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych  
Uniwersytet Jan Kochanowskiego w Kielcach

### RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Ewy Świdorskiej

*Wpływ hiperglikemii na zaburzenia szlaku PI3K w adipocytach wisceralnych*

Jednym z kluczowych problemów zdrowotnych są obecnie zaburzenia metabolizmu glukozy związane z szeregiem negatywnych konsekwencji zdrowotnych prowadzących do otyłości leżącej u podstaw chorób o znaczeniu cywilizacyjnym. Podstawową metodą leczenia otyłości jest modyfikacja stylu życia, w tym dieta czy aktywność fizyczna. Istnieje jednak wiele ograniczeń możliwości walki z otyłością jak choroby współistniejące czy wiek pacjenta. Istotnym sposobem walki wydaje się być tutaj farmakoterapia oparta na lekach o różnych mechanizmach działania od zmniejszających ilość wchłanianych kalorii po działanie ośrodkowe. Wiedza z zakresu biochemii tkanki tłuszczowej na poziomie molekularnym ma więc obecnie nie tylko charakter poznawczy, ale również aplikacyjny. Charakter praktyczny wiedzy o rolę tkanki tłuszczowej w metabolizmie cukrów i lipidów to wyznaczenie nowych celów terapeutycznych w walce z chorobami cywilizacyjnymi u podłoża których leży otyłość.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pani mgr. inż. Ewy Świdorskiej pt. *Wpływ hiperglikemii na zaburzenia szlaku PI3K w adipocytach wisceralnych* wpisuje się w powyższą tematykę. Jej osiągnięcie naukowe przedstawione w ramach cyklu publikacji dostarcza nowej wiedzy z zakresu zaburzeń szlaku PI3K w hiperglikemii w ludzkich adipocytach na różnych etapach zróżnicowania. Praca doktorska Pani mgr inż. Ewy Świdorskiej stanowiąca podstawę do nadania stopnia doktora została wykonana w Zakładzie Biochemii Medycznej pod kierunkiem prof. dr hab. n med. Janusza Szemraja. Badania zostały sfinansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS pt. *Rola zmian epigenetycznych i p53 w trzewnej tkance tłuszczowej w patogenezie*

cukrzyca typu 2, jak również w ramach środków Polskiego Towarzystwa Chorób Metabolicznych. Rozprawę doktorską stanowi cykl spójnych tematycznie trzech publikacji naukowych: dwóch artykułów doświadczalnych oraz rozdziału w monografii o charakterze pracy przeglądowej (sumarycznie 285 pkt. MEiN; IF = 10.754):

1. Świdarska, E.; Strycharz, J.; Wróblewski, A.; Szemraj, J.; Drzewoski, J.; Śliwińska, A.; Role of PI3K/AKT Pathway in Insulin-Mediated Glucose Uptake. rozdział w monografii Blood Glucose Levels
2. Świdarska, E.; Podolska, M.; Strycharz, J.; Szwed, M.; Abramczyk, H.; Brożek-Płuska, B.; Wróblewski, A.; Szemraj, J.; Majsterek, I.; Drzewoski, J.; Śliwińska, A. Hyperglycemia Changes Expression of Key Adipogenesis Markers (C/EBP $\alpha$  and PPAR $\gamma$ ) and Morphology of Differentiating Human Visceral Adipocytes. *Nutrients* 2019, 11, 1835. <https://doi.org/10.3390/nu11081835>
3. Świdarska, E.; Strycharz, J.; Wróblewski, A.; Czarny, P.; Szemraj, J.; Drzewoski, J.; Śliwińska, A. Chronic and Intermittent Hyperglycemia Modulates Expression of Key Molecules of PI3K/AKT Pathway in Differentiating Human Visceral Adipocytes. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 7712. <https://doi.org/10.3390/ijms22147712>

W przedstawionej dokumentacji brak jest oświadczeń Pani mgr inż. Ewy Świdarskiej dotyczącej jej udziału w powstaniu powyższych publikacji naukowych, w przeciwieństwie do pozostałych współautorów. W pracach tych Pani mgr inż. Ewy Świdarskiej jest pierwsza autorką i pełni w nich funkcję autora korespondencyjnego, a analiza różnicowa Jej udziału w publikacjach na podstawie oświadczeń współautorów wynosi odpowiednio 45%, 30% i 35%. Na podstawie podrozdziału *Author Contributions* w dwóch publikacjach (*Nutrients* oraz *IJMS*) wynika iż, na udział merytoryczny Pani mgr inż. Ewy Świdarskiej składa się metodologia i prowadzenie badań naukowych, analiza danych oraz przygotowanie pracy do publikacji. Pomimo tych informacji proszę o uszczegółowienie wkładu merytorycznego Doktorantki w powstanie poszczególnych publikacji, z uwzględnieniem udziału w badaniach w ramach poszczególnych metod badawczych.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska to zwarta koncepcja badań nad efektem hiperglikemii na zaburzenia szlaku sygnałowego PI3K/AKT w ludzkich adipocytach na różnych poziomach ich zróżnicowania. Materiał badawczy stanowiła ludzka linia wisceralnych preadipocytów HPA-V aż w 14 wariantach badawczych w warunkach normo-, przewlekłej i przejściowej hiperglikemii na etapach proliferacji, zróżnicowania i dojrzewania, ocenianych z



zastosowaniem sondy fluorescencyjnej BODIPY 505/515. Pozwoliło to na analizę szlaku sygnałowego PI3K/AKT w bardzo szerokim zakresie zaburzeń biochemicznych komórek HPV-V związanych z poziomem glukozy. Cel badań został osiągnięty z wykorzystaniem metod biologii molekularnej mających na celu określenie poziomu ekspresji RNA/białek zaangażowanych w szlak sygnałowy PI3K/AKT oraz wybranych miR będących regulatorami genów analizowanego szlaku. Uzyskane wyniki zestawiono z najnowszymi danymi literaturowymi w ramach poszczególnych publikacji naukowych.

Pierwsza z nich (**Publikacja 1**; Świdarska, E. i wsp. Pathway in insulin-mediated glucose uptake) jest wprowadzeniem teoretycznym do tematyki badawczej realizowanej w ramach pracy doktorskiej. Charakterystyka mechanizmu regulacji poziomu glukozy, w tym szlaków sygnałowych insuliny i PI3K/AKT zostały uzupełnione informacjami w zakresie środowiskowych czynników regulujących. Szczególną uwagę zwrócono na szlak PI3K/AKT i jego regulację z uwzględnieniem białek IRS, podjednostek regulatorowych kinazy PI3K oraz izoform kinazy AKT/PKB. W pracy podkreślono rolę insuliny w biochemii cukrów i lipidów omówionych na podstawie najnowszej literatury naukowej. Do tej części rozprawy mam pytanie dotyczące aktywność PI3K w komórkach nowotworowych jako potencjalny cel terapeutyczny.

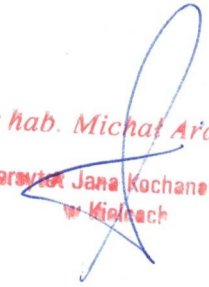
**Publikacja 2** (Świdarska, E. i wsp. Hyperglycemia changes expression of key adipogenesis markers (C/EBP $\alpha$  and PPAR $\gamma$ ) and morphology of differentiating human visceral adipocytes) przedstawia wyniki badań nad efektem hiperglikemii na proliferację, różnicowanie i dojrzewanie ludzkich pre/adipocytów wisceralnych linii HPA-V. Hodowlę komórkowej przeprowadzono w stałych lub zmiennych warunkach glikemii. Do tej części pracy mam pytanie dotyczące kryteriów wyboru stężenia glukozy w części doświadczalnej pracy. Uzyskane wyniki wskazują, że zarówno przewlekła, jak i przerywana hipoglikemia wpływa na trzewną adipogenezę. Efektem hipoglikemii są zmiany morfologii adipocytów oraz poziom ekspresji PPAR $\gamma$  i C/EBP $\alpha$ . Szczególnie ciekawym wnioskiem, co podkreśla również Doktorantka, jest efekt normalizacji glikemii na poziom mRNA i ekspresji białek oraz jego potencjalna korelacja z pamięcią metaboliczną. Proszę o rozwinięcie tej koncepcji podczas obrony pracy doktorskiej. Doktorantka zaobserwowała, iż poziomy ekspresji PPAR $\gamma$  i miR-34a-5p są ze sobą powiązane, a ekspresja miR-34a-5p jako stabilna w hodowli nie wpływała na C/EBP $\alpha$ . Zależność ta może być celem nowych badań ukierunkowanych na ocenę miR-34a-5p jako markera ADG w podskórnych komórkach tłuszczowych *versus* trzewnych.

**Publikacja 3** (Świdarska, E. i wsp. Chronic and intermittent hyperglycemia modulates expression of key molecules of PI3K/AKT pathway in differentiating human visceral adipocytes) dotyczy badań in

in vitro poziomu ekspresji mRNA i białek tj. IRS1, PI3K, AKT2, PTEN i GLUT4 w pre/adipocytach wisceralnych linii HPA-V podczas adipogenezy. Ponadto wyniki te skorelowano z poziomem ekspresję miR-29a-3p, miR143-3p, miR-145-5p, miR-152-3p, miR-186-5p, miR-370-3p i miR-374b-5p jako epigenetyczne regulatory ekspresji badanych białek w sygnalizacji insulinowej. Interesującym wnioskiem jest fakt iż badane białka zaangażowane w sygnalizację insulinową mogą uczestniczyć również w szlaków związanych z proliferacją, adipogenezą, procesem zapalnym, syntezą lipidów i regulacją ekspresji genów.

O dojrzałości naukowej Doktorantki świadczy obiektywna weryfikacja danych i rzetelne wnioskowanie na podstawie uzyskanych wyników, o czym świadczy rozdział w omawianej publikacji. W rozdziale tym określono ograniczenia, a zarazem kierunki przyszłych badań tj. efekt CHG i IHG na szlak PI3K/AKT, rola kinazy, w tym jej fosforylacji, w transdukcji sygnału insuliny, lokalizacja komórkowa GLUT4, rola metylacji oraz lncRNA w regulacji ekspresji genów. W tym miejscu mam pytanie dotyczące koncepcji badań dotyczących fosforylacji kinaz w transdukcji sygnału.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Ewy Świdorskiej pt. *Wpływ hiperglikemii na zaburzenia szlaku PI3K w adipocytach wisceralnych* stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia warunki 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 późn.zm). Biorąc pod uwagę udokumentowaną umiejętność prowadzenia badań naukowych oraz wiedzę teoretyczną wnosząc do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Ewy Świdorskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

  
dr hab. Michał Arabski  
Uniwersytet Jana Kochanowskiego  
w Kielcach