

Łódź, dnia 24 marca 2023 r.

Prof. dr hab. Joanna Saluk
Katedra Biochemii Ogólnej
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Ewy Świdorskiej

zatytułowanej:

„Wpływ hiperglikemii na zaburzenia szlaku PI3K w adipocytach wisceralnych”

wykonanej w

**Zakładzie Biochemii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Janusza Szemraja**

Rozprawa doktorska mgr inż. Ewy Świdorskiej ma formę spójnego tematycznie zbioru trzech artykułów opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych o łącznym współczynniku oddziaływania IF wynoszącym 10,7 i liczbie punktów MEiN równej 285. Na cykl ten składają się dwie prace doświadczalne oraz jedna praca przeglądowa, opublikowane w latach 2018-2021. Wszystkie trzy publikacje to prace współautorskie, w których Doktorantka jest pierwszym autorem, a Jej znaczący udział został określony na podstawie dołączonych do cyklu oświadczeń Współautorów. W tym miejscu chciałabym jednak zwrócić uwagę Doktorantki na konieczność wprowadzenia korekty dotyczącej oświadczeń Autorów pracy opublikowanej w *Nutrients* (Świdorska, E.; Podolska, M.; Strycharz, J.; Szwed, M.; Abramczyk, H.; Brożek-Płuska, B.; Wróblewski, A.; Szemraj, J.; Majsterek, I.; Drzewoski, J. *Hyperglycemia changes expression of key adipogenesis markers (C/EBP α and PPAR γ) and morphology of differentiating human visceral adipocytes. Nutrients 2019, 11, 1835).*

tel. +48 42 635 44 85

ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

e-mail: joanna.saluk@biol.uni.lodz.pl

 www.biol.uni.lodz.pl

Do zbioru publikacji dołączone zostało 21 stronicowe opracowanie w języku polskim, wprowadzające w tematykę badań niniejszej rozprawy, jak również uzasadniające celowość ich podjęcia, w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy. W opracowaniu tym Autorka zawarła Wstęp teoretyczny, Cel pracy, krótką charakterystykę zastosowanych metod badawczych, opis wyników wraz z ich dyskusją, oraz posumowanie, w którym Doktorantka omawia wnioski wynikające z przeprowadzonych doświadczeń. Tu także znajdują się Streszczenia w języku polskim i angielskim oraz Spis literatury (liczący 37 pozycji, z których połowa pochodzi z okresu ostatnich 5 lat).

Celem pracy podjętej przez Doktorantkę było zbadanie wpływu hiperglikemii na zaburzenia szlaku sygnałowego kinaz PI3K/AKT w ludzkich wisceralnych adipocytach w różnych stadiach rozwoju, tj. na etapach proliferacji, różnicowania i dojrzewania.

We Wstępie swojej pracy Autorka uzasadnia znaczenie tematyki podjętych przez Nią badań, podkreślając metaboliczną rolę tkanki tłuszczowej w organizmie. Szczególną uwagę Doktorantka zwraca na funkcję wisceralnej tkanki tłuszczowej w rozwoju procesów patologicznych prowadzących do wystąpienia zaburzeń metabolicznych. Zagadnienia stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej wpisują się w nurt aktualnych badań prowadzonych na Świecie na przestrzeni ostatnich dwóch dekad, które dostarczają przełomowych obserwacji dowodząc immunologiczno-metaboliczno-endokrynej funkcji wisceralnej tkanki tłuszczowej, co podkreśla zasadność prowadzenia badań nad molekularnymi procesami leżącymi u podstaw zaburzeń rozwoju adipocytów.

Co więcej, Doktorantka zakłada, iż poznanie uwarunkowań molekularnych mechanizmów rozwoju adipocytów oraz wpływu tych komórek na metabolizm glukozy zależnego od szlaku PI3K/AKT, pozwoli na zidentyfikowanie nowych celów terapeutycznych dla niektórych chorób metabolicznych, takich jak otyłość, czy cukrzyca. W tym kontekście, podjęte przez Doktorantkę badania są interesujące poznawczo, ale mogą mieć także potencjał aplikacyjny.

W swojej pracy Pani mgr inż. Świdarska wykazała, że zmiana normatywnego środowiska adipocytów w kierunku warunków hiperglikemii wpływa na morfologię tych komórek oraz powoduje zmiany ekspresji wybranych cząsteczek związanych z procesem adipogenezy.

Uzyskane wyniki sugerują, że wywołany hiperglikemią efekt przyspieszonego różnicowania adipocytów jest następstwem hipertrofii. Zwiększona wewnątrzkomórkowa akumulacja lipidów obserwowana w warunkach hiperlikemii, prowadząca do przedwczesnego zwiększania objętości adipocytu, może stanowić czynnik stanu zapalnego stanowiącego nieodłączny element zaburzeń metabolicznych. Dane literaturowe jasno dowodzą, że nadmierny rozwój tkanki tłuszczowej indukuje powstawanie w jej obrębie uogólnionego przewlekłego stanu zapalnego o niskim natężeniu, co nie tylko wpływa na rozwój procesów

patologicznych w samej tkance tłuszczowej, ale jest także związane z występowaniem właśnie licznych schorzeń metabolicznych.

W swojej pracy Doktorantka podjęła próbę określenia molekularnego podłoża obserwowanych zmian, poprzez analizę wybranych szlaków sygnałowych. Występowanie zjawiska hipertrofii może stanowić sygnał do rozpoczęcia procesu hiperplazji warunkującego rozrost tkanki tłuszczowej, co przede wszystkim dotyczy tkanki wiscelarnej. Podjęte przez Doktorantkę badania miały m.in. na celu określenie poziomu ekspresji dwóch głównych czynników transkrypcyjnych, będących kluczowymi markerami adipogenezy, zaangażowanych w procesy różnicowania i dojrzewania adipocytów. Badając ekspresję zarówno na poziomie mRNA jak i białka, Doktorantka wykazała, że ekspozycja na warunki glikemiczne wywoływała zmiany ekspresji C/EBP α oraz PPAR γ dopiero na etapie dojrzewania adipocytów. Co więcej, profilowanie ekspresji cząsteczek miRNA celujących w te białka regulatorowe, wykazało wpływ glikemii na poziom ekspresji cząsteczki miR-34-5p będącej inhibitorem aktywności PPAR γ , również jedynie w przypadku dojrzałych adipocytów. Różnice zaobserwowane w trakcie przeprowadzonych eksperymentów nie pozwalają jednoznacznie określić skutku działania nienormatywnej glikemii na ekspresję badanych markerów adipogenezy, jednak podkreślają jej wpływ w końcowym etapie tego procesu. Co szczególnie ważne, zaobserwowane zmiany nie wykazywały tendencji do cofania się w następstwie późniejszej normalizacji poziomu glikemii. Obserwacja ta zasługuje na szczególną uwagę, gdyż może sugerować istnienie tzw. pamięci metabolicznej w adipocytach tkanki wiscelarnej, podkreślając znaczenie długofalowych skutków hiperglikemii.

Biorąc pod uwagę, że tkanka tłuszczowa jest wysoce wrażliwa na insulinę, hormon ten reguluje wiele procesów komórkowych zachodzących w adipocytach, w tym ich odpowiedź metaboliczną zależną od szlaku kinaz PI3K/AKT, regulującego wychwyt glukozy przez adipocyty przy udziale transportera glukozy GLUT4. Uzasadnia to podjęcie przez Doktorantkę badań, których celem było określenie ekspresji genów i białek szlaku IRS1/PI3K/AKT2/GLUT4 w adipocytach poddanych warunkom hiperglikemii na różnych stadiach ich rozwoju, a także określenie profilu ekspresji wybranych miRNA, będących regulatorami badanych genów. W badaniach tych Doktorantka wykazała wzmocnienie badanego szlaku sygnalizacji insulinowej, co wyklucza wytworzenie w wiskularnej tkance tłuszczowej stanu insulinooporności na skutek utrzymujących się warunków hiperlikemii i wskazuje na zdolności adaptacyjne adipocytów w odpowiedzi na niekorzystne bodźce środowiskowe. Co więcej, obserwowane zmiany były widoczne również po normalizacji poziomu glikemii. Wzmocniony wychwyt glukozy asocjuje z wykazanim w tych badaniach wzrostem objętości adipocytu w wyniku odkładania lipidów. Wszystko to potwierdza, że stan hiperglikemii wzmacnia przebieg procesu adipogenezy w sposób zależny od szlaku sygnałowego PI3K/AKT. Tym bardziej, że ekspresja GLUT4 silnie koreluje z progresją adipogenezy. Profilowanie ekspresji wybranych miRNA będących regulatorami szlaku IRS1/PI3K/AKT2/GLUT4 wskazało na możliwość

wytypowania kilku obiecujących markerów odzwierciedlających przebieg omawianych procesów, co stwarza możliwość wczesnego monitorowania i minimalizowania potencjalnych powikłań metabolicznych.

Wpływ czynników epigenetycznych na aktywność szlaku kinazy PI3K, a także jego udział w zależnym od insuliny wychwycie glukozy, Doktorantka opisała szerzej w pracy przeglądowej wchodzącej w skład cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską.

Dostarczone wyniki posiadają dużą wartość merytoryczną i stanowią cenne źródło wiedzy na temat molekularnych mechanizmów rozwoju adipocytów oraz regulacji wychwyty glukozy. W tym miejscu chciałabym jednak poprosić Doktorantkę o doprecyzowanie i sformułowanie wniosków końcowych wieńczących Jej interesującą pracę. Doktorantka zawarła oczywiście w dołączonym do cyklu opracowaniu rozdział zatytułowany Podsumowanie i wnioski, gdzie opisowo podsumowuje otrzymane wyniki. Według mnie brakuje jednak zwięzłego sformułowania wniosków, które zostałyby przedstawione w typowej formie powszechnie przyjętej dla dysertacji tj. w postaci punktów stanowiących bezpośrednie odniesienie do postawionych celów.

Przechodząc do podsumowania i oceny pracy, należy podkreślić, że opublikowanie badań w czasopismach z wysokim współczynnikiem oddziaływania bardzo dobrze świadczy o aktualnym i nowatorskim charakterze podjętej tematyki oraz istotnym znaczeniu osiągnięć. Koncepcja rozprawy doktorskiej jest przemyślana, szczegółowo zaplanowana i wielowątkowa. Dysertacja prezentuje wyniki oryginalnych badań, przeprowadzonych z wykorzystaniem aktualnie stosowanych nowoczesnych metod badawczych, co pozwala sądzić, że Doktorantka dysponuje dobrym warsztatem badawczym umożliwiającym realizowanie eksperymentów naukowych na światowym poziomie. Przeprowadzone badania dostarczyły cennych wyników, które zostały szeroko omówione i przedyskutowane w przedłożonych do oceny publikacjach. Przedstawione wyniki stanowią oryginalny wkład do nauki i otwierają dalsze interesujące obszary badawcze. Całościowo opracowane dzieło wskazuje, że Doktorantka posiada szeroką wiedzę w dyscyplinie naukowej stanowiącej przedmiot Jej zainteresowania.

Stwierdzam zatem, że rozprawa Pani mgr inż. Ewy Świdorskiej „Wpływ hiperglikemii na zaburzenia szlaku PI3K w adipocytach wisceralnych” posiada wysoką wartość poznawczą i bez wątpienia spełnia warunki określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668). W związku z czym przekładam Wysokiej Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr inż. Ewy Świdorskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz publicznej obrony pracy doktorskiej.

Ze względu na wysoki poziom naukowy dysertacji wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej pracy doktorskiej.