



Łódź, 3 kwietnia 2023

Prof. dr hab. Jarosław Dziadek
Kierownik Pracowni Genetyki i Fizjologii Mycobacterium
Instytut Biologii Medycznej PAN

Ocena pracy doktorskiej mgr Katarzyny Mac-Marcjanek pt. „Zróżnicowanie profili ekspresji genu SIRT1 oraz genów powiązanych z genem SIRT1 w cukrzycy ciążowej (GDM)”.

Cukrzyca ciążowa zależnie od badanej populacji dotyczy od 3 do 9% ciężarnych. Schorzenie to zazwyczaj powoduje niewiele objawów jednak zwiększa ryzyko stanu przedrzucawkowego, depresji i konieczności cięcia cesarskiego. Dzieci urodzone przez matki ze źle leczoną cukrzycą ciążową są bardziej narażone na makrosomię, hipoglikemię po urodzeniu i żółtaczkę. W dłuższej perspektywie dzieci są bardziej narażone na nadwagę i rozwój cukrzycy typu 2. Dokładne mechanizmy molekularne leżące u podstaw cukrzycy ciążowej pozostają nieznane. Cechą charakterystyczną GDM jest zwiększona oporność na insulinę. Uważa się, że hormony ciążowe i inne czynniki zakłócają działanie insuliny wiążąc się z jej receptorem. Do zmian zachodzi prawdopodobnie na poziomie komórkowej ścieżki sygnałowej poza receptorem insuliny. Skala problemu oraz braki w wiedzy dotyczącej molekularnych mechanizmów związanych z rozwojem GDM w pełni uzasadniają wybór tematu badań Doktorantki. Modelem badawczym Doktorantki były leukocyty izolowane z krwi obwodowej pacjentek w trzecim trymestrze ciąży z GDM oraz pacjentek normoglikemicznych jako grupy kontrolnej. Recenzowana praca została wykonana w Zakładzie Biologii Strukturalnej UMed w Łodzi pod opieką prof. dr hab. Lucyny Woźniak co zapewniło Doktorantce dostęp do niezbędnych dla wykonywanej pracy materiałów i technik badawczych.

Dysertacja została przygotowana na podstawie jednej pracy poglądowej oraz dwóch współautorskich prac eksperymentalnych, w których Doktorantka pełniła wiodącą rolę, opublikowanych w czasopismach naukowych z listy Filadelfijskiej. Udział Doktorantki w przygotowaniu opublikowanych prac został szczegółowo opisany oraz potwierdzony poprzez



oświadczenia współautorów. Załączone publikacje zostały poprzedzone poprzez przedstawienie celu i założeń pracy oraz wstęp zawierający najbardziej istotne informacje dotyczące cukrzycy ciężarowej oraz genów, których poziom ekspresji był analizowany w ramach prowadzonych przez Doktorantkę badań. Dysertacja zawiera także obszernie omówienie każdej z prac cyklu. Niezrozumiałym jest dla mnie włączenie do tych omawianych prac artykułu zaliczanego do pozostałego dorobku publikacyjnego (Wójcik M. i wsp., 2015) tym bardziej na pozycji trzeciej, przed omówieniem jednej z publikacji (Mac-Marcjanek K. i wsp., 2017) będącej integralną częścią dysertacji. Dysertacja zawiera także wnioski ogólne i szczegółowe oraz streszczenie w języku polskim oraz angielskim.

Jako obszernie wprowadzenie do tematyki badań należy uznać pracę pogładową Doktorantki zamieszczoną w Przeglądzie Menopauzalnym w 2011 roku poświęconą białku SIRT1 będącym NAD⁺-zależną jądrową deacetylazą, która poprzez różne czynniki transkrypcyjne uczestniczy w regulacji takich procesów jak apoptoza, metabolizm tłuszczu, homeostaza glukozy oraz neurodegeneracja. Doktorantka szczególną uwagę poświęca roli SIRT1 w regulacji wydzielania insuliny oraz regulacji metabolizmu węglowodanowo-lipidowego w wątrobie, trzustce, mięśniach szkieletowych oraz tkance tłuszczowej.

Za najważniejszą pracę stanowiącą integralną część dysertacji należy uznać publikację zamieszczoną w International Journal of Molecular Sciences w 2018 roku. W pracy tej Doktorantka analizuje poziom ekspresji genu SIRT1 u 122 pacjentek z GDM oraz 41 pacjentek z prawidłową tolerancją glukozy. Przeprowadzone badania pozwoliły na wyodrębnienie wśród pacjentek z GDM grupy o znaczącej nadekspresji SIRT1 stanowiącą ¼ (n=30) badanej populacji z GDM. Większość z pacjentek z GDM nie wykazywało silnej nadprodukcji SIRT1 (n=92). **Ciekawy jestem, czy udało się Doktorantce skorelować badane parametry kliniczne z nadprodukcją SIRT1. Czy uzyskane wyniki oraz dane literaturowe wskazują nadprodukcję SIRT1 jako skutek czy też przyczynę zaburzeń w homeostazie glukozy?** Bardzo interesującą częścią badań opisanych w omawianej pracy było poszukiwanie, z wykorzystaniem mikromacierzy DNA genów, których ekspresja była zależna od nadprodukcji SIRT1. Doktorantka zidentyfikowała 11 genów o przynajmniej dwukrotnie zmienionej ekspresji a dla części z nich uzyskane wyniki weryfikowała poprzez ilościowy PCR (qPCR). Pozwoliło to na identyfikację 3 genów o podwyższonej (G6PD, IL6, SNAP23) oraz jednego (ACLY) o obniżonej ekspresji w grupie GDM, ale tylko ACLY charakteryzował się statystycznie znacząco



obniżoną ekspresją porównując pacjentów GDM z niskim i wysokim poziomem SIRT1. ACLY katalizuje produkcję acetylo-CoA, generując substrat do biosyntezy *de novo* kwasów tłuszczowych i cholesterolu. **Czy mogłaby Doktorantka przedstawić potencjalną rolę tego enzymu w rozwoju cukrzycy?** Trochę szkoda, że Doktorantka nie zdecydowała się na zweryfikowanie przeprowadzonych obserwacji na poziomie produktu białkowego, choćby dla IL-6, co pozwoliłoby stwierdzić na ile różnice w poziomie ekspresji badanych genów przenoszą się na obecność produktu białkowego w leukocytach.

Druga z prac eksperymentalnych, opublikowana w Endokrynologii Polskiej w 2017 roku, stanowiąca integralną część dysertacji ma charakter praktyczny i dotyczy porównania ekspresji IL6 w leukocytach pacjentek z cukrzycą ciążową diagnozowanych zgodnie z kryteriami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego z 2011 i 2014 roku. Stosując kryteria z 2011 roku autorzy zaobserwowali wzrost ekspresji IL6 w grupie pacjentek z GDM natomiast przy zastosowaniu kryteriów z 2014 takiej różnicy nie zaobserwowano. Co więcej poziom ekspresji IL6 w grupach GDM przy zastosowaniu obu kryteriów był podobny, natomiast w grupach kontrolnych różnił się w zależności od zastosowanego kryterium. **Ciekawy jestem, które z zastosowanych kryteriów były wg Doktorantki bardziej informatywne w aspekcie poziomu IL6? Czy IL6 jako cytokina prozapalna, często indukowana w wielu procesach patofizjologicznych, charakteryzująca się działaniem plejotropowym może być rozważana jako specyficzny czynnik związany z GDM?**

Zarówno praca przeglądowa wchodzące w skład dysertacji jak i wprowadzenia oraz dyskusje zawarte w pracach oryginalnych świadczą o głębokiej wiedzy Doktorantki w badanej tematyce oraz bardzo dobrej pracy z literaturą naukową. Dyskusje prac eksperymentalnych są napisane w sposób krytyczny w stosunku do własnych wyników oraz omawianych danych literaturowych. Podsumowanie oraz wnioski zawarte w publikacjach jak i zamieszczone w postaci osobnego rozdziału w dysertacji są w pełni uprawnione i mają podstawy zarówno w wynikach własnych jak i danych z piśmiennictwa.

Na koniec chciałbym poznać opinię Doktorantki co do celowości wprowadzenia do rutynowej diagnostyki kobiet ciężarnych z GDM ilościowej oceny ekspresji któregoś z badanych w ramach pracy doktorskiej genów lub ewentualnie innych genów, którymi Doktorantka w ramach opisanych w doktoracie badań się nie zajmowała.

**Podsumowanie:**

Po wnikliwym zapoznaniu się z pracą doktorską Pani Katarzyny Mac-Marcjanek uważam, że Doktorantka prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną niezbędną dla osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki medyczne, wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej a przedstawiona do oceny dysertacja stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia kryteria zawarte w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Wnoszę do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Pani Katarzyny Mac-Marcjanek do dalszych etapów postępowania.

Kierownik
Pracowni Genetyki i Fizjologii Mycobacterium


Prof. dr hab. Jerzy Dzięcielak