

dr hab. n. med. Agnieszka Bojarska-Junak, prof. uczelni

Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin

tel. 81 4486420

Lublin, 05.09.2024r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Doroty Bewicz-Binkowskiej

**pt.: „Wpływ nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych na ekspresję
FADS2 w astrocytach”**

*(Effects of saturated and unsaturated fatty acids on the expression
of FADS2 in astrocytes)*

zrealizowanej w Zakładzie Interakcji Międzykomórkowych Katedry Fizjologii
Doświadczalnej i Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi,
pod kierunkiem dr hab. n. med. prof. uczelni Anny Walczewskiej

*Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi pismo sygnowane przez Prodziekan ds. Nauki Wydziału
Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi Profesor dr hab. n. med. Agnieszkę Wierzbowską
z dnia 26.06.2024r.*

Kwasy tłuszczowe są jedną z ważniejszych grup związków biologicznie czynnych w organizmie. Mają podstawowe znaczenie dla prawidłowego rozwoju i funkcjonowania wszystkich komórek. Siła kwasów tłuszczowych wynika przede wszystkim z ich obecności w błonie plazmatycznej wszystkich komórek organizmu. Rodzaj kwasów tłuszczowych tworzących cząsteczki fosfolipidów ma istotny wpływ na elastyczność błony plazmatycznej, jej stabilność i funkcjonowanie. Kwasy tłuszczowe stanowią materiał energetyczny a wpływając na aktywność czynników transkrypcyjnych regulują ekspresję genów odpowiedzialnych za metabolizm związków organicznych, a także wzrost i różnicowanie komórek. Wpływają na układ immunologiczny i hormonalny organizmu. Ponadto coraz więcej dowodów wskazuje, że kwasy tłuszczowe pełnią ważną rolę w rozwoju układu nerwowego. Wpływają na powstawanie nowych komórek nerwowych (neurogenezę), przekazywanie sygnałów, neuroprzebieżność oraz ochronę komórek nerwowych przed śmiercią apoptotyczną i stresem oksydacyjnym. Zaburzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych w mózgu zostały powiązane z rozwojem zaburzeń neurologicznych. W związku z powyższym dobór tematu przedłożonej mi do recenzji rozprawy doktorskiej oceniam jako trafny i uzasadniony. Tematyka badawcza wpisuje się w ogólnoświatowe trendy naukowe i kliniczne. Podjęte przez Doktorantkę zagadnienie jest problemem aktualnym i ważnym, zarówno pod względem

teoretycznym, jak i praktycznym. Tytuł dysertacji odzwierciedla zakres przeprowadzonych badań.

Rozprawa ma formę monografii liczącej 100 stron numerowanych i ma układ typowy dla tego typu opracowań naukowych z wydzielonymi rozdziałami: *Wstęp*, *Cel pracy*, *Materiały*, *Metody*, *Wyniki*, *Dyskusja i Wnioski*, *Wnioski*, *Piśmiennictwo*, *Spis Rycin* i *Tabel* oraz *Aneks* zawierający nazwy i symbole kwasów tłuszczowych nasyconych i nienasyconych. Tekst pracy jest poprzedzony *Spisem Treści* i *Wykazem Skrótów*. Umieszczenie na początku pracy wykazu skrótów jest pomocne i ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z jej treścią. Świadczy także o trosce Doktorantki o czytelność rozprawy. Rozprawa uzupełniona jest o *Streszczenie w języku polskim i angielskim*, w którym Autorka dokonuje zwięzłego omówienia założeń, celu, wyników i wniosków swojej pracy. Kolejność poszczególnych rozdziałów układa się w sekwencję logiczną. Niestety w rozprawie widoczna jest dysproporcja pomiędzy objętością poszczególnych części. *Wstęp* liczy 29 stron, *Wyniki* 7 stron a *Dyskusja* 2 strony. W mojej opinii podział na rozdziały powinny być w miarę możliwości równomierny - należy unikać dużych dysproporcji objętościowych pomiędzy poszczególnymi rozdziałami. Z obowiązku recenzenta podaję również, że pojawił się błąd w numeracji rozdziałów. *Wyniki* oraz *Metody* opatrzone są tym samym numerem - IV. Rozprawa ilustrowana jest 13 rycinami. Umieszczono w niej także 3 tabele. Ryciny są dobrze dobrane i w istotny sposób ułatwiają odbiór treści pracy. Moim zdaniem należałoby jednak ujednoczyć opis źródeł rysunków. Można się domyślić, że w przypadku ich braku są to źródła własne. Ponadto, podpisy rysunków i tabel powinny być mniejszą lub/i inną czcionką niż główny tekst pracy. W przeciwnym wypadku, tak jak jest obecnie, zlewają się z tekstem.

Pracę rozpoczyna obszerny **Wstęp**. Ta część rozprawy logicznie, konsekwentnie i wyczerpująco wprowadza czytelnika w zagadnienia poruszane w rozprawie. Doktorantka przedstawiła zagadnienia dotyczące lipidów błonowych w mózgu. Opisała budowę i klasyfikację kwasów tłuszczowych. Znaczna część *Wstępu* została słusznie poświęcona zagadnieniom związanym z transportem kwasów tłuszczowych z krwi do mózgu, ich biosyntezą oraz znaczeniem w błonach komórek układu nerwowego. Autorka dokonała również przeglądu literatury na temat desaturaz FADS. Zwróciła uwagę na ich kluczową rolę w procesie przemiany wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. We *Wstępie* nie zabrakło również informacji na temat regulacji aktywności desaturaz FADS. Ta część rozprawy doktorskiej stanowi uzasadnienie podjętej tematyki badawczej. Wątki poruszane we *Wstępie* wiążą się ze sobą i płynnie „przechodzą” w kolejne. Doktorantka swobodnie porusza się w piśmiennictwie dotyczącym omawianych zagadnień. Autorka dołożyła starań, żeby wzbogacić tekst *Wstępu* rycinami, pomocnymi w zrozumieniu treści. *Wstęp* stanowi najobszerniejszy fragment pracy. W mojej opinii bez szkody dla jakości przekazu mógłby on zostać skrócony, a duża część zawartych w nim treści przeniesiona do *Dyskusji*. Pozwoliłoby to na lepsze

zbalansowanie przedstawionej do recenzji pracy. W oparciu o przesłanki zawarte we *Wstępie* Doktorantka sformułowała cele badań.

W rozdziale poświęconym **Celom Pracy** Autorka zwięźle uzasadnia wybór tematyki prowadzonych badań. W mojej ocenie rozdział ten wyraźnie naświetla kierunek badań. Cel pracy został jasno sprecyzowany i jest zgodny z tematem rozprawy. Autorka podkreśliła istotę problemu, który zaplanowała rozwiązać w toku badań. *Celom Pracy*, który określiła Doktorantka była ocena wpływu nasyconego kwasu palmitynowego (PA, C16:0) oraz nienasyconych kwasów: α -linolenowego (ALA, C18:3n-3) i dokosaheksaenowego (DHA, C22:6n-3) na ekspresję FADS2 w astrocytach, izolowanych z kory mózgowej osesków szczura.

W rozdziałach **Materiał i Metody**, przedstawiono w sposób czytelny i wyczerpujący metody badawcze. Doktorantka wymieniła stosowane materiały z podaniem źródeł odczynników (wraz z numerami katalogowymi) oraz zastosowaną aparaturę. Autorka adekwatnie dobrała model badawczy – astrocyty pozyskiwane z kory mózgowej 1-2 dniowych osesków szczurzych szczepu Wistar. Zabrakło jednak informacji ile sztuk zwierząt wykorzystano na doświadczenie. Układ tego rozdziału jest przejrzysty. Autorka szczegółowo opisuje wykonanie poszczególnych etapów oznaczeń. Wykonanie ambitnych i pracochłonnych eksperymentów, nie budzi zastrzeżeń. Szczegółowy opis wykonanych oznaczeń dowodzi rzetelności wykonanych badań. Należy stwierdzić, że dobór metod był adekwatny do osiągnięcia zaplanowanych celów. Uważam, że zaproponowane metody badawcze zostały przemyślane i dostosowane do potrzeb realizacji wytyczonych celów. Całość metodyki została przedstawiona w sposób umożliwiający powtórzenie badania. Projekt badawczy Doktorantki uzyskał pozytywną opinię Komisji Etycznej nr 9 przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi nr ŁB680/2014.

Wyniki swoich badań Autorka przedstawiła opisowo oraz przy pomocy 7 rycin i 1 tabeli. Interpretacja uzyskanych wyników jest prawidłowa. Jednak, w mojej opinii zróżnicowana metodologia i wielorakość przeprowadzonych badań wymagała bardziej szczegółowego omówienia. W obecnej formie wyniki opisano bardzo syntetycznie. W rezultacie mamy do czynienia z pewną dysproporcją między rozbudowanym *Wstępem* a zbyt syntetycznym opisem wyników przeprowadzonych badań. Niemniej jednak, uważam otrzymane rezultaty za oryginalne i wartościowe.

Omówienie wyników (**Dyskusja i Wnioski**) zawarte jest na 2 stronach. Autorka omawia i interpretuje własne obserwacje opisane w rozdziale *Wyniki*. Czasami odwołuje się do efektów badań innych autorów. Rozdział ten został napisany bardzo zwięźle, krótko i konkretnie. Należy stwierdzić, że tekst tego rozdziału jest napisany w przystępny dla czytelnika sposób. Jednak zabrakło w nim szerszego wyjaśnienia uzyskanych wyników poprzez odniesienie ich nie tylko do sformułowanych hipotez ale także wyników badań innych badaczy. Niestety w tym rozdziale zabrakło mi „dialogu” między wynikami Doktorantki

a wynikami uzyskanymi przez innych autorów. *Dyskusja* w swojej obecnej formie jest niewątpliwym ograniczeniem dysertacji. Brakuje w niej krytycznej oceny warsztatu metodologicznego Autorki rozprawy oraz pogłębionej refleksji Doktorantki w odniesieniu do ewentualnych ograniczeń badań własnych, kierunków przyszłych badań oraz implikacji praktycznych. Szkoda, że Doktorantka nie wyjaśnia jakie są ograniczenia przeprowadzonego badania oraz jakie mogą być praktyczne konsekwencje i zastosowania jej doniesień. Proszę o odniesienie się do rezultatów innych autorów podczas obrony. Moje dodatkowe pytanie dotyczy potencjalnej aplikacyjności uzyskanych przez Doktorantkę wyników. Jakie są możliwości i jednocześnie ograniczenia wykorzystania uzyskanych wyników? Pomimo powyższych uwag krótka dyskusja została napisana w sposób logiczny i spójny.

Na podstawie przeprowadzonej analizy Doktorantka wyeksponowała 4 **Wnioski**:

1. Nasycony kwas PA, powszechnie dostępny w diecie, działając sam jak i razem z VA zwiększa ekspresję genu FADS2 oraz ilość desaturazy w astrocytach. Aktywacja FADS2 przez PA nie spowodowała w błonach wzrostu DHA i EPA n-3, ale zwiększyła ilość AA n-6, co może wpływać niekorzystnie na czynność komórek, działając pro-oksydacyjnie i pro-zapalnie poprzez jego pochodne.
2. Kwas ALA n-3 nie wpływa na ekspresję genu i białka FADS2, natomiast podwyższa zawartość AA w błonach. Molekularny mechanizm tych zmian nie jest jasny.
3. Wielonienasycony kwas DHA n-3 hamuje ekspresję genu i białka FADS2, natomiast po wcześniejszej aktywacji receptorów retinoidowych RAR i RXR, wyraźnie stymuluje ekspresję genu i zwiększa ilość enzymu w komórkach.
4. Pomimo zahamowania aktywności FADS2 przez DHA, korzystnie zmienił się profil kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych. Zwiększyła się ilość kwasów DHA i EPA oraz zmniejszyła ilość PA, kwasu oleinowego (C18:1n-9) oraz AA. Taki profil kwasów tłuszczowych w błonach może działać przeciwzapalnie i zwiększać przeżywalność komórek.
5. Wykazane działania kwasów na aktywację FADS2 w porównaniu do zmian zawartości LC-PUFA w błonach pozwalają stwierdzić, że zmiany jej aktywności mogą wpływać na profil kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych, ale w dużym stopniu zależą także od podaży kwasów tłuszczowych dostarczanych do komórek.

Cytowane powyżej wnioski są logiczne, wyważone i znajdują uzasadnienie w wynikach pracy.

Piśmiennictwo jest bogate i obejmuje aż 314 pozycji uszeregowanych w kolejności cytowania. W większości są to pozycje anglojęzyczne. Jest to literatura zarówno najnowsza, jak i historyczna. Dobór ten, pozostający w pewnym nadmiarze, świadczy o bardzo dobrym teoretycznym przygotowaniu do badań. Zakres podanego piśmiennictwa świadczy o tym, że Doktorantka dokładnie zapoznała się z obecnym stanem wiedzy związanym z podjętą tematyką. Drobną uwagę dotyczy stron internetowych. W dobrym tonie jest opisać stronę, a nie tylko zamieszczać sam adres, z którego często nie da się wywnioskować tematyki strony.

Obowiązkiem recenzenta jest ocena zawartości merytorycznej, metodologii przeprowadzonych badań oraz poprawności wnioskowania w oparciu o przeprowadzone badania i dyskusję przedmiotu. W tym zakresie przedstawiłam już swoje zastrzeżenia. Jednakże w moim przekonaniu nie dyskwalifikują one pracy. Walory rozprawy zdecydowanie przeważają nad jej pewnymi niedociągnięciami. Pomimo przedstawionych uwag, uważam, że Doktorantka wykazała się umiejętnością wyboru aktualnego tematu badawczego, prawidłowo sformułowała cele, zastosowała poprawną metodykę badań, co pozwoliło na uzyskanie wartościowego materiału naukowego. Praca przedstawia spójną tematykę badawczą oraz spójny ciąg myślenia naukowego. Forma językowa, stylistyczna i gramatyczna prezentacji jest dobra. Praca jest napisana starannie, dobrym językiem naukowym, w sposób przystępny dla czytelnika. Otrzymane wyniki otwierają dalsze perspektywy badawcze. Drobne błędy edytorskie nie wpływają na całokształt odbioru rozprawy doktorskiej Pani mgr Doroty Bewicz-Binkowskiej. Wszelkie umieszczone powyżej krytyczne uwagi zostały podane w celu dyskusji i w nadziei, że w przyszłości zostaną uwzględnione przez Autorkę podczas przygotowywania artykułów do czasopism naukowych.

Wnioski końcowe

Rozprawa doktorska Pani mgr Doroty Bewicz-Binkowskiej zatytułowana „*Wpływ nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych na ekspresję FADS2 w astrocytach*” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Dowodzi nabycia przez Doktorantkę odpowiedniej wiedzy teoretycznej oraz umiejętności zastosowania tej wiedzy przy rozwiązywaniu problemów badawczych. Doktorantka w rozprawie wykazała się umiejętnością interpretacji i wyciągania wniosków z przeprowadzonych badań. Przedłożona rozprawa doktorska potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm.). W związku z powyższym wnoszę do Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Doroty Bewicz-Binkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


dr hab. n. med. Agnieszka Bojarska-Junak, prof. uczelni