

Kraków, 31 marca 2021 r.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr. Aleksandry Czumaj

pt. „Zmiany metabolizmu lipidów w hepatocytach i adipocytach indukowane zaburzeniami profilu kwasów tłuszczowych”

Charakterystyka formalna rozprawy:

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr. Aleksandry Czumaj pt. „Zmiany metabolizmu lipidów w hepatocytach i adipocytach indukowane zaburzeniami profilu kwasów tłuszczowych” wykonana została w ramach realizacji grantu NCN/OPUS 6, 2014-2018 (kierownik prof. dr hab. Michał Chmielewski) oraz przy wsparciu finansowym z projektu POWR.03.02.00-00-I026/17-00. Celem pracy doktorskiej było przebadanie na modelu *in vitro* - z wykorzystaniem stosownych linii komórkowych hepatocytów i adipocytów - czy i w jaki sposób kompozycja kwasów tłuszczowych odmienna od prawidłowej, a charakterystyczna dla przewlekłej choroby nerek (CKD), wpływa na ekspresję wyselekcjonowanych, związanych z metabolizmem lipidów genów, a także ocena ewentualnych skutków jej występowania w przebiegu tego schorzenia.

Wyniki przeprowadzonych i przedstawionych w rozprawie doktorskiej badań zostały opublikowane w latach 2018-2020 w formie czterech prac. Doktorantka jest pierwszym autorem trzech z nich – dwóch doświadczalnych (Czumaj A. et al., *Lipids*, 2018, 53(3):345-351; IF=2,144 i Czumaj A. et al., *Int.J.Mol.Sci.*, 2019, 20(10):2470; IF=4,556 oraz jednej przeglądowej (Czumaj A., Śledziński T.: *Biological role of unsaturated fatty acid desaturases in health and disease*, *Nutrients*, 2020, 12(2):356; IF=5,089), a w jednej drugim autorem (Korczyńska J., Czumaj A. et al., *Metabolites*, 2020, 10(3): 98; IF=4,097). Opublikowanie wyników badań w czasopiśmie z wysokim współczynnikiem oddziaływania (sumaryczny IF= 15,886) bardzo dobrze świadczy o ich aktualności i znaczeniu, a fakt, że doktorantka jest w trzech z nich pierwszym autorem wskazuje na Jej zasadniczą rolę w planowaniu i prowadzeniu badań oraz opracowaniu wyników i przygotowaniu ich do druku. Założyć więc należy, że osobiście przeprowadziła zdecydowaną większość omawianych eksperymentów, albo w znaczącym wymiarze uczestniczyła w ich wykonaniu.

Wydział Lekarski

Katedra

Biochemii Lekarskiej

ul. Kopernika 7

PL 31-034 Kraków

tel./fax +48 12 422 32 72

+48 12 422 74 00

+48 12 424 72 29

kbl_sekr@cm-uj.krakow.pl

www.biochemia.cm-uj.krakow.pl

Zagadnienie przewlekłej choroby nerek (PChN, CRD) jest od wielu lat przedmiotem intensywnych badań ze względu na wysoki odsetek osób dotkniętych tym schorzeniem zarówno globalnie, jak i w Polsce oraz jego coraz częściej dokumentowane powiązanie m.in. z zaburzeniami i incydentami w funkcjonowaniu układu krążenia. W ostatnich latach nastąpiło wyraźne nasilenie badań na poziomie molekularnym, w szczególności poświęconych metabolizmowi lipidów i wszelkim konsekwencjom obserwowanych w tym schorzeniu zmian profilu metabolitów lipidowych. Tematyka ta znajduje się również od lat w centrum zainteresowania kilku zespołów badawczych Wydziałów Lekarskiego i Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Mając na uwadze powyższe można z przekonaniem wyrazić pogląd, że problematyka poruszona w rozprawie doktorskiej dotyczy aktualnie istotnych od strony medycznej zagadnień, w których rozwiązaniu biochemiczne badania podstawowe zrealizowane w pracy doktorskiej i/lub podobne odegrać mogą istotną rolę. Jednocześnie doskonale wpisują się one w profil badań prowadzonych i koordynowanych przez Promotora, dr hab. Tomasza Śledzińskiego w kierowanej przez Niego Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Ocena merytoryczna rozprawy:

Wspomniane powyżej 4 publikacje stanowią trzon rozprawy doktorskiej (Załączniki A – D). Ich kopie poprzedzone są częścią (38 stron), której celem jest wprowadzenie czytelnika w tematykę badań i uzasadnienie powodów ich podjęcia (Wstęp: 6 str., 2 rysunki; Cel: 1 str.) oraz krótka charakterystyka wyników i wypływające z nich konkluzje (Najważniejsze wyniki: 12 str., 12 rysunków; Wnioski: 1 str.). Uzupełnione zostały rozdziałami stanowiącymi części składowe klasycznej wersji pracy doktorskiej jak: Spis treści (1 str.), Wykaz skrótów (2 str.), Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (1 str.), Streszczenie w j. polskim i Abstrakt w j. angielskim (2 str.), oraz Piśmiennictwo (8 str., 119 pozycji). Rozdział „Najważniejsze wyniki” stanowi skondensowaną wersję prezentacji wyników zawartych w opublikowanych pracach. Wszystkie rysunki w tym rozdziale oraz we Wstępie, z wyjątkiem zamieszczonego w nim Rys. 2, do którego odniosę się niezależnie, zostały opracowane – co doktorantka odnotowała w ich podpisach – na podstawie rysunków załączonych publikacji. Rozdział Piśmiennictwo jest, co zrozumiale, częścią bibliografii, do której autorzy się w nich odwołują.

Praca doktorska jest napisana czytelnie, a jej przesłanie wyrażone we Wnioskach nie budzi wątpliwości. Zapoznanie się z wynikami pracy i ich interpretacją pozwala rozpoznać w doktorantce dobrze przeszkoloną, wnikliwą oraz pracowitą badaczkę, która jest

zorientowana w przedstawianych w rozprawie zagadnieniach, a także biegle i w zasadzie poprawnie operuje szeroką na ich temat wiedzą.

Wnikliwe zapoznanie się z rozprawą doktorską mgr Aleksandry Czumaj zmusza mnie jednak, jako recenzenta, do sformułowania kilku uwag oraz zadania pytań, celem wyjaśnienia pewnych wątpliwości czy niejasności:

- 1/ po przeczytaniu części poprzedzającej załączone publikacje, będącej wprowadzeniem do prezentowanych w nich zagadnień, odczułem pewien niedosyt z powodu braku choćby krótkiej dyskusji. Myślę, że pomimo szczegółowych dyskusji w każdej z publikacji, a także komentarzy do wyników zawartych w rozdziale „Najważniejsze wyniki”, spójne, spajające klamrą przeprowadzone badania, zaprezentowane wyniki i sugerowane wnioski choćby krótkie ich przedyskutowanie byłoby bardzo zasadne w ocenie osiągnięcia jakim jest bez wątpienia na starcie kariery akademickiej zestaw prezentowanych prac,
- 2/ myślę, że jeśli doktorantka pokusiła się o napisanie takiego wprowadzenia, to również istotne dla dokonania właściwej oceny zastosowanego do badań warsztatu laboratoryjnego byłoby zamieszczenie listy technik/metod badawczych wykorzystanych przez nią w ramach realizacji pracy doktorskiej,
- 3/ w rozdziale Wstęp na str. 11 w akapicie znajdującym się pod Ryciną 1 doktorantka używa sformułowania: „..... *FA pobierane przez hepatocyty mogą pochodzić z hydrolizy triacylogliceroli (TAG) lub mogą to być wolne, niezestryfikowane FA.*” i w kolejnym zdaniu: „..... *FA o krótkiej i średniej długości łańcucha mogą być wprowadzane do krwi bezpośrednio (bez inkorporowania ich do chylomikronów).*” Zabrakło mi krótkiego wzmiankowania, że w ich transportowaniu w układzie krążenia pośredniczy albumina osocza krwi. Mam wrażenie, że doktorantka milcząco zakłada, iż czytelnicy posiadają wiedzę, że kwasy tłuszczowe w krążeniu są związane z albuminą, choć jednocześnie dość szczegółowo omawia losy pochodzących z diety długołańcuchowych FA,
- 4/ w tymże rozdziale znajduje się na str. 12 Rycina 2, o której wspominałem powyżej. Zawiera ona informacje poprawnie przedstawione na Fig. 5 (załącznik C, str. 9) i Fig. 4 (załącznik D, str. 349), które na omawianej rycinie zostały uzupełnione na lewej stronie schematu o zależność jaka nie była ujęta na rysunkach wskazanych w publikacjach. Chodzi o relacje pomiędzy acylo-CoA syntetyzowanymi w hepatocytach i acetylo-CoA, który oczywiście może z nich powstawać oraz jego wykorzystaniem do syntezy kwasów tłuszczowych i cholesterolu. Ta część schematu, czego nie ma na wskazanych schematach w pracach C i D, może sugerować, że zarówno kwasy tłuszczowe, jak i cholesterol powstają z acetylo-CoA będącego

produktem przemian katabolicznych acylo-CoA. Nie ma w tym kontekście słowa o glukozie jako zasadniczym źródle węgla, a także wodorów do syntezy kwasów tłuszczowych nie tylko zresztą w wątrobie, ale i w tkance tłuszczowej. Acetylo-CoA pochodzące z degradacji kwasów tłuszczowych służy w wątrobie głównie pozyskaniu energii lub w szczególnych okolicznościach syntezie „przetrawionej formy energii” jaką są ciała ketonowe. Skoro kwas tłuszczowy trafia do wątroby czy to z reszkowych chylomikronów, czy poprzez uwolnienie z albuminy nie miałyby sensu degradowanie go drogą beta-oksydacji, aby następnie natychmiast wykorzystać zwrócić do syntezy kwasów tłuszczowych czy cholesterolu. Właściwy i uzależniony od okoliczności metabolicznych przebieg tych procesów zabezpieczają liczne mechanizmy regulacyjne. Doskonale prezentuje część z podniesionych powyżej kwestii Fig. 1 w pracy autorstwa H. Shimano: SREBPs: physiology and pathophysiology of the SREBP family (FEBS J., 2009, 276, 616-621). Rysunki w opublikowanych pracach (Fig. 5, załącznik C i Fig. 4 załącznik D) pokazują jedynie obecność acetylo-CoA jako prekursora do syntezy obu wspomnianych rodzajów lipidów, kwasów tłuszczowych i cholesterolu, ale nie wskazują na jego połączenie z acylo-CoA pochodzącym z utleniania kwasów tłuszczowych i dlatego są bez zastrzeżeń akceptowalne.

Być może zamieszczenie choćby szczątkowej dyskusji na końcu części rozprawy doktorskiej, poprzedzającej kopie opublikowanych prac, pomogłaby odnieść się do wskazanych tu wątpliwości i rozwianiu wszelkich niejasności. Odnośne dyskusje są prowadzone w publikacjach A, C i D, ale podnoszą one nieco inne aspekty regulacji metabolizmu lipidów, w tym na poziomie ekspresji genów najważniejszych enzymów szlaków ich syntez poprzez nadal nie do końca wyjaśniony i dyskusyjny udział poszczególnych SREBP czy rozmaitych wersji receptorów aktywatorów proliferacji paroksyzmów, PPAR.

Wniosek końcowy:

Podsumowując, pragnę stwierdzić, że – pomimo wysuniętych w recenzji uwag krytycznych i komentarzy – dysertacja doktorska mgr Aleksandry Czumaj pt. „Zmiany metabolizmu lipidów w hepatocytach i adipocytach indukowane zaburzeniami profilu kwasów tłuszczowych” prezentuje wyniki oryginalnych, znajdujących się niekiedy – jak w przypadku badań nad ekspresją leptyny czy rolą kwasu CPOA2H – na wstępnym etapie badań przeprowadzonych z wykorzystaniem aktualnie stosowanych i powszechnie akceptowanych metod badawczych biologii komórki i molekularnej wspartych niezbędnymi biochemicznymi technikami analitycznymi. Przedstawione i przedyskutowane wyniki stanowią oryginalny i trwały wkład do nauki i otwierają dalsze interesujące obszary badawcze, co stanowi o ich

niezaprzeczalnej wartości. Praca doktorska mgr Aleksandry Czumaj stanowi spójne, dojrzałe opracowane dzieło, które prezentuje oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i wykazuje, że doktorantka posiada zadowalającą wiedzę w dyscyplinie naukowej będącej przedmiotem Jej zainteresowania, a także umiejętność planowania i prowadzenia badań oraz interpretowania i komentowania ich wyników w świetle dostępnej aktualnie literatury. Stwierdzam, że przedłożona rozprawa spełnia wszelkie wymogi zwyczajowe, stawiane pracom doktorskim, jak również warunki określone w ustawie Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r, Dz.U z 2018 r., poz. 1668 z późniejszymi zmianami).

W mojej ocenie przedłożona praca w pełni kwalifikuje doktorantkę do dalszych etapów przewodu doktorskiego, o co niniejszym wnoszę do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.



Prof. dr hab. Piotr Laidler

Pieczętka jednostki organizacyjnej recenzenta

PIOTR LAIDLER

Imię i nazwisko recenzenta

Prof dr hab / Profesor zw.

Tytuł/stopień naukowy/stanowisko recenzenta

Imię i nazwisko

doktoranta: mgr ALEKSANDRA CZUMAJ

Tytuł pracy doktorskiej: "Zmiany metabolizmu lipidów w hepatocytach i adipocytach indukowane zaburzeniem profilu kwasów tłuszczowych"

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Niniejszy zwracam się z wnioskiem do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej.

Uzasadnienie:

Mając na uwadze walory merytoryczne dysertacji, a mianowicie:

- 1/ wykazanie po raz pierwszy z wykorzystaniem mieszaniny kwasów tłuszczowych wyekstrahowanych z osocza krwi osób dotkniętych przewlekłą chorobą nerek (PChN), w tym nietypowego i rzadko występującego w organizmie ludzkim kwasu 2-heksylo cyklopropanooktanowego, że wpływają one na ekspresję enzymów zaangażowanych w lipogenezę w hepatocytach co prowadzi do zaburzenia profilu lipidowego w krążeniu ze wszystkimi tego niekorzystnymi konsekwencjami,
- 2/ w znacznym stopniu pionierskie i otwierające nowe obszary badawcze wyniki odnośnie ekspresji leptyny w adipocytach wystawionych na działanie kompozycji i poszczególnych składników mieszaniny kwasów tłuszczowych charakterystycznych dla PChN,
- 3/ ewentualne implikacje odnośnie przyszłych postępowań terapeutycznych mających na celu jego leczenie

wniosuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Czumaj.