Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk

Zastępca Dyrektora ds. Naukowych
Prof. dr hab. Andrzej Ziemba
Tel: (48 22) 668-52-50,
Fax: (48 22) 668-55-32
e-mail: ziemba@imdik.pan.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Elżbiety Supruniuk pt. „Wpływ farmakologicznej stymulacji koaktywatora PGC-1α na metabolizm lipidów w komórkach mięśni szkieletowych"

Przedmiot rozprawy i jego znaczenie naukowe

Przedstawiona do recenzji praca doktorska wpisuje się w tematykę Zakładu Fizjologii, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku i jest kontynuacją badań poświęconych szlakom metabolicznym lipidów w mięśniach szkieletowych. Wyniki badań dotyczące tego tematu zapewniły czołową pozycję Zakładu w piśmiennictwie światowym czego dowodem są liczne publikacje zamieszczane w międzynarodowych czasopismach o znaczącym współczynniku oddziaływania (IF). Tematyka dotycząca przemian lipidów w mięśniach szkieletowych ma doniosłe znaczenie nie tylko ze względu produkcję energii, ale również w przypadku zaburzeń szlaków sygnałowych na etiologię schorzeń, przede wszystkim zaś insulinoporności, która stanowi główne zaburzenie metaboliczne współczesnego *homo sedentarius* - człowieka siedzącego. Poszukiwanie zatem, mechanizmów wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnałów i metod ingerencji w szlaki lipolizy i lipogenezy należy jak się wydaje do najsubtelniejszych poszukiwań poznawczych metabolizmu człowieka, z drugiej zaś strony kryje wielkie nadzieje terapeutyczne.

Obecnie wskazuje się na istotną rolę koaktywatora PGC-1α receptora γ aktywowanego przez proliferatory peroksysomów w procesach transkrypcji genów kodujących białka biorące udział w β-oksydacji i

02-106 Warszawa
ul. A. Pawińskiego 5
Tel.: (0-22) 668 52 50
Fax: (0-22) 668 55 32
www.imdik.pan.pl

IMDiK
POLSKA AKADEMIA NAUK

syntezie lipidów. Zatem podjęcie próby ingerencji w przemiany metaboliczne poprzez farmakologiczna modulację koaktywatora PGC-1α w komórkach mięśniowych jest jak najbardziej uzasadnione i stanowi logiczną kontynuację dotychczasowych badań.

Charakterystyka i ocena strony formalnej pracy.

Przedstawiona dysertacja charakteryzuje się jeszcze stosunkowo rzadko spotykaną konstrukcją redakcyjną, przyjętą słusznie przez Uniwersytet Medyczny w Białymstoku. Główny tekst rozprawy poprzedza życiorys i dorobek naukowy Doktorantki. Na podkreślenie zasługuje przemyślany układ rozprawy, w którym w tekście polskim znajdują się odnośniki do prac oryginalnych Autorki, co ułatwia poruszanie się po tekście i bardzo uatrakcyjnia jego lekturę. Zwraca również uwagę bardzo staranne przygotowanie całego manuskryptu. Zastosowane w pracy metody są dokładne, nowoczesne i adekwatne do zrealizowania postawionych celów w pracy celów.

Podstawę rozprawy doktorskiej stanowią dwie prace opublikowane w znaczących czasopismach zagranicznych o międzynarodowym zasięgu i posiadających istotny współczynnik wpływu (IF). Są to: praca przeglądowa opublikowana w Frontiers in Physiology (IF= 3,394), i w Journal of Cellular Physiology (IF=3,923). Zatem sumaryczny Impact Factor prac wchodzących w skład pracy doktorskiej wynosi IF= 7,317.

Manuskrypt rozprawy zawiera również oświadczenia współautorów prac stwierdzające wiodący udział Doktorantki w ich powstaniu.

Aczkolwiek ustawa o stopniach naukowych nie wymaga od recenzenta oceny aktywności naukowej Kandydatki, z przyjemnością wykroczę poza ten obowiązek i wykorzystam zamieszczony w rozprawie Jej życiorys

02-106 Warszawa
ul. A. Pawińskiego 5
Tel.: (0-22) 668 52 50
Fax: (0-22) 668 55 32
www.imdik.pan.pl

IMDiK
POLSKA AKADEMIA NAUK

naukowy. Wskazuje on bowiem na bogatą, mimo młodego wieku aktywność naukową Doktorantki. Pomimo, że ukończyła studia w 2016 r do dnia dzisiejszego opublikowała trzy prace oryginalne o sumarycznym współczynniku wpływu = 9,795, była autorką lub współautorką 11 doniesień na zjazdach i konferencjach. Ponadto uczestniczyła w realizacji pięciu projektów badawczych w tym w trzech była kierownikiem. Brała udział w licznych szkoleniach i sympozjach, na studiach zaś była członkiem dwóch kół naukowych. Taki dorobek w ciągu trzech zaledwie lat wskazuje nie tylko na postać Doktorantki jako niezwykle obiecującego pracownika naukowego, ale udowadnia Jej ponadprzeciętna aktywność godną uhonorowania doktoratem.

Poza artykułami stanowiącymi treść rozprawy, manuskrypt rozdziały typowe dla tego typu rozpraw. W krótkim wstępie, Doktorantka przedstawiła opis metabolizmu lipidów w mięśniach szkieletowych, przemiany zachodzące w szlakach sfingolipidów oraz rolę koaktywatora 1α receptora γ aktywowanego aktywowanego przez proliferatory peroksysomów (PGC-1α) w metabolizmie mięśni szkieletowych. Pragnę podkreślić, że na 6,5 stronach doktorantka zawarła nie tylko wszystkie niezbędne informacje, bogato je ilustrując, ale potrafiła również budując napięcie czytelnika wyprowadzić cel rozprawy.

Cel pracy sprowadzał się do:

1. Oszacowania efektywności stymulacji PGC-1α w komórkach mięśni szkieletowych poddanych stymulacji o różnym czasie trwania za pomocą pirolochinolinochinonem (PQQ).
2. Opisania skutków indukowanej nadekspresji PGC-1α na przemiany tłuszczów a zwłaszcza wpływ nadekspresji PGC-1α na transport kwasów tłuszczowych do komórki i zawartość frakcji lipidowych.

02-106 Warszawa
ul. A. Pawińskiego 5
Tel.: (0-22) 668 52 50
Fax: (0-22) 668 55 32
www.imdik.pan.pl

IMDiK
POLSKA AKADEMIA NAUK

Uzyskane wyniki i wnioski.

Doktorantka stwierdziła, że skuteczność stymulacji PGC-1α zależała od stężenia oraz czasu stymulacji komórek z PQQ. Najwyższą ekspresję koaktywatora na poziomie mRNA stwierdzono przy stężeniu 1μM PQQ, natomiast na poziomie białka dla stężenia 0,5μM PQQ. Jedynie długotrwała inkubacja komórek przy tym ostatnim stężeniu PQQ prowadziła do znaczącego wychwytu kwasu palmitynowego. Inkubacja miotub L6 z PQQ prowadziła do zwiększenia zawartości lipidów frakcji triacyloglicerolі we wszystkich grupach doświadczalnych przy równoczesnym obniżeniu stężenia Wolnych Kwasów Tłuszczowych, przy równoczesnym braku zmian w stężeniu diacyloglicerolі. Autorka stwierdziła również zwiększenie zawartości ceramidów po 2 godz. inkubacji przy stężeniu 0,5μM PQQ oraz po 24 godz. przy wszystkich zastosowanych stężeniach tego związku. Równocześnie stwierdzono obniżenie stężenia sfinganiny i sfinganino-1 – fosforanu przy krótko trwającej stymulacji PGC-1α, natomiast po długotrwałej inkubacji z różnymi stężeniami PQQ nastąpił wzrost zawartości sfingozyny. Niezależnie od czasu inkubacji Doktorantka stwierdziła zmniejszenie zawartości sfingomieliny w komórkach mięśni szkieletowych.

Otrzymane wyniki doprowadziły do sformułowania przez Autorkę następujących wniosków:

1. Stopień indukowanej ekspresji PGC-1α zarówno na poziomie transkrypcji jak posttranskrypcji zależy od zastosowanego stężenie i czasu inkubacji ze stymulatorem PQQ.
2. Zastosowanie PQQ w stymulacji PGC-1α nie wpływa na dokomórkowy transport kwasu palmitynowego.

02-106 Warszawa
ul. A. Pawińskiego 5
Tel.: (0-22) 668 52 50
Fax: (0-22) 668 55 32
www.imdik.pan.pl

IMDiK
POLSKA AKADEMIA NAUK

3. Stymulacja ekspresji PGC-1α prowadzi do zmniejszenia stężenia Wolnych Kwasów Tłuszczowych, zwiększenia ilości triacylogliceroli. Wskazuje to na działanie protekcyjne wobec komórek.
4. Zwiększona zawartość PGC-1α prowadzi do wewnątrzkomórkowej akumulacji ceramidów, która może wynikać z aktywacji z aktywacji ich syntezy *de novo* , hydrolizy sfingomieliny i jak określa to autorka stymulacji „szlaku ratunkowego".

Uwagi krytyczne

Praca jest niemal doskonała. Jednak zabrakło mi we wnioskach pewnych sformułowań o znaczeniu ogólnym, bardziej praktycznym, odnoszących się do marzeń doktorantki o zastosowaniu Jej wyników. Nawet jeżeli byłyby to jedynie spekulacje, są one w pełni uprawnione, wszak praca naukowa jest romantycznym poszukiwaniem prawdy. Takie dywagacje spełniały by również oczekiwania administratorów nauki oczekujących od nas tzw. aplikacyjności. Uwaga ta dotyczy jedynie części polskiej rozprawy, ponieważ pewną namiastkę tego Doktorantka zawarła na stronie 61 przedstawiającej zakończenie pracy oryginalnej.

Podsumowanie

Wysoka wartość naukowa przedstawionej pracy została dostatecznie i jednoznacznie pozytywnie zweryfikowana przez fakt jej opublikowania w dwóch znaczących periodykach o zasięgu międzynarodowym o łącznym współczynniku wpływu IF= 7,317. Przedstawiony manuskrypt rozprawy zarówno pod względem merytorycznym, językowym i redakcyjnym

02-106 Warszawa
ul. A. Pawińskiego 5
Tel.: (0-22) 668 52 50
Fax: (0-22) 668 55 32
www.imdik.pan.pl

IMDiK
POLSKA AKADEMIA NAUK

wykazuje, że Doktorantka jest dojrzałym badaczem, świadomym stawianych celów naukowych, i wyśmienicie zorganizowanym pod względem metodycznym. Jej prace i aktywność naukowa zdaniem recenzenta powodują, że mgr Elżbieta Supruniuk w pełni zasługuje na uzyskanie stopnia doktora.

Wniosek końcowy

Zdaniem recenzenta przedstawiona do oceny rozprawa doktorska 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.) stawiane rozprawom doktorskim.

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Naukowej Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie. mgr Elżbiety Supruniuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie biorąc pod uwagę ponadprzeciętny poziom przedstawionej rozprawy doktorskiej wnioskuję o jej wyróżnienie.

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Ziemba

Warszawa, dnia 10 maja 2019

02-106 Warszawa
ul. A. Pawińskiego 5
Tel.: (0-22) 668 52 50
Fax: (0-22) 668 55 32
www.imdik.pan.pl