PODPIS ZAUFANY
KRZYSZTOF
NOWAK
16.11.2023 22:22:35 [GMT+1]
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

Prof. dr hab. Krzysztof W. Nowak
członek korespondent Polskiej Akademii Nauk
Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań
tel.: 61 846 6082, fax: 61 8487197
e-mail: kwnowak@up.poznan.pl
www.kwnowak.pl

Ocena rozprawy doktorskiej
mgr. Marka Adamowskiego pt. „Wpływ szlaku sygnałowego leptyny na zmiany ekspresji genów i białek inflamasomu NLRP3 w jajniku otyłych myszy”,
wykonanej w Zakładzie Immunologii i Patologii Rozrodu
Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie
pod opieką dra hab. n. wet. António Miguela Galvão,
przedłożonej Radzie Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Historia badań genetycznego uwarunkowania otyłości sięga końca lat 40-tych ubiegłego wieku. Pierwsza mysz ob/ob powstała przypadkowo w kolonii w Jackson Laboratory w 1949 roku, recesywna mutacja wystąpiła samoistnie u myszy C57BL/6J (obecnie B6). Genetyczne podłoże tej mutacji oraz jej wpływ na powstawanie otyłości zostało wyjaśnione dopiero w 1994 roku przez grupę Prof. Jeffrey’a M. Friedmana z Howard Hughes Medical Institute w The Rockefeller University. Od tego momentu badania nad peptydami uczestniczącymi w regulacji pobierania pokarmu i masy ciała mocno przyśpieszyły.

Dziś już wiemy, że ilość tkanki tłuszczowej determinuje osiągnięcie dojrzałości płciowej, natomiast jej nadmiar zaburza płodność. Wiemy też, że otyłość jest uznawana za przewlekły stan zapalny. Przedstawiona do oceny praca doktorska dotyka obu tych problemów, to jest funkcji jajnika w stanie otyłości w powiązaniu z odpowiedzią zapalną.

Ocena formalna

Praca jest bardzo obszerna, zawiera (i) wykaz skrótów (5 stron), (ii-iii) streszczenia w języku polskim i angielskim (po 3 strony), (iv) bardzo obszerny wstęp (25 stron), (v) jednostronicowy opis hipotezy i celów badawczych, (vi) szczegółowy opis materiału i stosowanych metod (21 stron), (vii) prezentację wyników w podziale na zadania badawcze wraz z rycinami (31 stron, w tym 21 rycin), (viii) omówienie wyników i ich przedyskutowanie w konfrontacji z literaturą (ponad 7 stron), (ix) podsumowanie i wnioski (2 strony), (x) 280 pozycji literatury oraz (xi) 38 stron suplementu z indywidualnymi wynikami.

Autor deklaruje, że część wyników prezentowanych w pracy została opublikowana w dwóch oryginalnych pracach. W takiej sytuacji we wszystkich znanych mi przypadkach takie publikacje, wraz z oświadczeniami współautorów o udziale, są zamieszczane w pracy. Oczywiście prace te są dostępne w bazach, jednak dla przejrzystości sprawy powinny być moim zdaniem załączone. Rozumiem, że o dominującej roli Doktoranta w tych publikacjach świadczy jego pozycja w składzie autorów.

Ocena merytoryczna

Jak już wspomniałem na wstępie, praca dotyczy bardzo istotnego problemu związanego z rozrodem, to znaczy wpływu tkanki tłuszczowej, a właściwie jej hormonu – leptyny, na uruchamianie inflamasomu w jajniku. Zatem mamy do czynienia z ważnym problemem naukowym, który został prawidłowo ujęty.

Doktorant przebadał (i) ekspresję elementów szlaku inflamasomu NLRP3 tak na etapie transkryptów jak i białek, (ii) regulację inflamasomu pod wpływem szlaku sygnalizacji leptyny w otyłości indukowanej dietą, w modelach genetycznych (mutacja genu leptyny i mutacja genu jej receptora) oraz w modelu „farmakologicznym" po 16 dniach dwukrotnego podawania leptyny dootrzewnowo. Ponadto, (iii) przeanalizowany został transkrypton komórek ziarnistych jajnika w obu modelach genetycznych oraz (iv) wpływ leptyny na ekspresję elementów szlaku inflamasomu w komórkach wzgórka we wczesnej otyłości oraz (v) w wątrobie myszy otyłych.

Zastosowanie kilku modeli otyłości oraz bardzo szerokiego warsztatu badawczego pozwoliło Doktorantowi uzyskać interesujące i istotne poznawczo wyniki, a w szerokim wstępie przedstawiono wszystkie zagadnienia niezbędne dla zrozumienia pracy. Świadczy to moim

zdaniem o dobrym przygotowaniu merytorycznym i warsztatowym Kandydata oraz o znajomości literatury związanej z problematyką pracy.

W pracy wykazano aktywację inflamasomu w jajniku myszy w fazie diestrus i potwierdzono immunochemicznie jego lokalizację w komórkach ziarnistych, komórkach osłonki i w oocytach. Autor wykazał związek pomiędzy sygnałem leptyny a zmianami aktywności inflamasomu, podczas gdy w późnej otyłości, to jest po ustaleniu się leptynooporności, zaburzenia sygnalingu leptyny prowadzą do braku aktywacji inflamasomu. Podobnie w modelach genetycznych, ze względu na brak aktywacji transdukcji sygnału leptyny, nie zaobserwowano wyżej opisanego oddziaływania w komórkach ziarnistych. Z drugiej strony, analiza transkryptonomiczna pokazała zmiany ekspresji genów uczestniczących w steroidogenezie oraz przebudowie macierzy pozakomórkowej.

Powyższe obserwacje pomagają zrozumieć zmiany funkcji jajnika w trakcie rozwijającej się otyłości i mają znaczenie poznawcze z całkiem niedaleką perspektywą utylitarną.

Uwagi

W mojej ocenie praca jest ciekawa, ale dość trudna w odbiorze ze względu na mnogość wyników i modeli. Ponieważ rolą starego dydaktyka jest wyłapywanie niedociągnięć, zatem muszę zwrócić uwagę na bardzo zły opis modeli genetycznych. Doktorant w streszczeniu napisał „… myszy pozbawione genu receptora leptyny (db/db) … myszy pozbawione genu leptyny (ob/ob) …”. Otóż w obu przypadkach geny te występują. I jak pokazał Chen H. i wsp. (1996, Cell 84: 491-495.) u myszy db/db dochodzi do alternatywnego składania transkryptu ze względu na punktową mutację G --> T, co znosi aktywność receptora. Podobnie, Zhang Y. i wsp. (1994, Nature 372:425-432.) wykazał, że punktowa mutacja w 105 kodonie z CGA na TGA prowadzi do zatrzymania translacji zamiast włączenia argininy. Powstaje peptyd o długości 104 aminokwasów pozbawiony zdolności transdukcji sygnału. Zatem w obu przypadkach jest gen, jest białko i jest brak aktywności.

Ocena końcowa

W mojej ocenie przedstawiona do recenzji praca doktorska dotyczy istotnego zagadnienia naukowego, dobrano odpowiednie modele i metody badawcze, uzyskano istotne wyniki, które przedyskutowano z aktualną literaturą. Uzyskane wyniki mogą mieć ponadto znaczenie praktyczne.

Pracę doktorską Pana mgr. Marka Adamowskiego oceniam pozytywnie, spełnia ona według mnie ustawowe kryteria dla uzyskania stopnia naukowego doktora. Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pana mgr. Marka Adamowskiego do dalszych etapów postępowania.

Poznań, dnia 13 września 2023 roku

Prof. dr hab. Krzysztof W. Nowak
członek korespondent Polskiej Akademii Nauk
Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań
tel.: 61 846 6082, fax: 61 8487197
e-mail: kwnowak@up.poznan.pl
www.kwnowak.pl

Ocena rozprawy doktorskiej
mgr. Marka Adamowskiego pt. „Wpływ szlaku sygnałowego leptyny na zmiany ekspresji genów i białek inflamasomu NLRP3 w jajniku otyłych myszy”,
wykonanej w Zakładzie Immunologii i Patologii Rozrodu
Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie
pod opieką dra hab. n. wet. António Miguela Galvão,
przedłożonej Radzie Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Historia badań genetycznego uwarunkowania otyłości sięga końca lat 40-tych ubiegłego wieku. Pierwsza mysz ob/ob powstała przypadkowo w kolonii w Jackson Laboratory w 1949 roku, recesywna mutacja wystąpiła samoistnie u myszy C57BL/6J (obecnie B6). Genetyczne podłoże tej mutacji oraz jej wpływ na powstawanie otyłości zostało wyjaśnione dopiero w 1994 roku przez grupę Prof. Jeffrey’a M. Friedmana z Howard Hughes Medical Institute w The Rockefeller University. Od tego momentu badania nad peptydami uczestniczącymi w regulacji pobierania pokarmu i masy ciała mocno przyśpieszyły.

Dziś już wiemy, że ilość tkanki tłuszczowej determinuje osiągnięcie dojrzałości płciowej, natomiast jej nadmiar zaburza płodność. Wiemy też, że otyłość jest uznawana za przewlekły stan zapalny. Przedstawiona do oceny praca doktorska dotyka obu tych problemów, to jest funkcji jajnika w stanie otyłości w powiązaniu z odpowiedzią zapalną.

Ocena formalna

Praca jest bardzo obszerna, zawiera (i) wykaz skrótów (5 stron), (ii-iii) streszczenia w języku polskim i angielskim (po 3 strony), (iv) bardzo obszerny wstęp (25 stron), (v) jednostronicowy opis hipotezy i celów badawczych, (vi) szczegółowy opis materiału i stosowanych metod (21 stron), (vii) prezentację wyników w podziale na zadania badawcze wraz z rycinami (31 stron, w tym 21 rycin), (viii) omówienie wyników i ich przedyskutowanie w konfrontacji z literaturą (ponad 7 stron), (ix) podsumowanie i wnioski (2 strony), (x) 280 pozycji literatury oraz (xi) 38 stron suplementu z indywidualnymi wynikami.

Autor deklaruje, że część wyników prezentowanych w pracy została opublikowana w dwóch oryginalnych pracach. W takiej sytuacji we wszystkich znanych mi przypadkach takie publikacje, wraz z oświadczeniami współautorów o udziale, są zamieszczane w pracy. Oczywiście prace te są dostępne w bazach, jednak dla przejrzystości sprawy powinny być moim zdaniem załączone. Rozumiem, że o dominującej roli Doktoranta w tych publikacjach świadczy jego pozycja w składzie autorów.

Ocena merytoryczna

Jak już wspomniałem na wstępie, praca dotyczy bardzo istotnego problemu związanego z rozrodem, to znaczy wpływu tkanki tłuszczowej, a właściwie jej hormonu – leptyny, na uruchamianie inflamasomu w jajniku. Zatem mamy do czynienia z ważnym problemem naukowym, który został prawidłowo ujęty.

Doktorant przebadał (i) ekspresję elementów szlaku inflamasomu NLRP3 tak na etapie transkryptów jak i białek, (ii) regulację inflamasomu pod wpływem szlaku sygnalizacji leptyny w otyłości indukowanej dietą, w modelach genetycznych (mutacja genu leptyny i mutacja genu jej receptora) oraz w modelu „farmakologicznym" po 16 dniach dwukrotnego podawania leptyny dootrzewnowo. Ponadto, (iii) przeanalizowany został transkrypton komórek ziarnistych jajnika w obu modelach genetycznych oraz (iv) wpływ leptyny na ekspresję elementów szlaku inflamasomu w komórkach wzgórka we wczesnej otyłości oraz (v) w wątrobie myszy otyłych.

Zastosowanie kilku modeli otyłości oraz bardzo szerokiego warsztatu badawczego pozwoliło Doktorantowi uzyskać interesujące i istotne poznawczo wyniki, a w szerokim wstępie przedstawiono wszystkie zagadnienia niezbędne dla zrozumienia pracy. Świadczy to moim

zdaniem o dobrym przygotowaniu merytorycznym i warsztatowym Kandydata oraz o znajomości literatury związanej z problematyką pracy.

W pracy wykazano aktywację inflamasomu w jajniku myszy w fazie diestrus i potwierdzono immunochemicznie jego lokalizację w komórkach ziarnistych, komórkach osłonki i w oocytach. Autor wykazał związek pomiędzy sygnałem leptyny a zmianami aktywności inflamasomu, podczas gdy w późnej otyłości, to jest po ustaleniu się leptynooporności, zaburzenia sygnalingu leptyny prowadzą do braku aktywacji inflamasomu. Podobnie w modelach genetycznych, ze względu na brak aktywacji transdukcji sygnału leptyny, nie zaobserwowano wyżej opisanego oddziaływania w komórkach ziarnistych. Z drugiej strony, analiza transkryptonomiczna pokazała zmiany ekspresji genów uczestniczących w steroidogenezie oraz przebudowie macierzy pozakomórkowej.

Powyższe obserwacje pomagają zrozumieć zmiany funkcji jajnika w trakcie rozwijającej się otyłości i mają znaczenie poznawcze z całkiem niedaleką perspektywą utylitarną.

Uwagi

W mojej ocenie praca jest ciekawa, ale dość trudna w odbiorze ze względu na mnogość wyników i modeli. Ponieważ rolą starego dydaktyka jest wyłapywanie niedociągnięć, zatem muszę zwrócić uwagę na bardzo zły opis modeli genetycznych. Doktorant w streszczeniu napisał „… myszy pozbawione genu receptora leptyny (db/db) … myszy pozbawione genu leptyny (ob/ob) …”. Otóż w obu przypadkach geny te występują. I jak pokazał Chen H. i wsp. (1996, Cell 84: 491-495.) u myszy db/db dochodzi do alternatywnego składania transkryptu ze względu na punktową mutację G --> T, co znosi aktywność receptora. Podobnie, Zhang Y. i wsp. (1994, Nature 372:425-432.) wykazał, że punktowa mutacja w 105 kodonie z CGA na TGA prowadzi do zatrzymania translacji zamiast włączenia argininy. Powstaje peptyd o długości 104 aminokwasów pozbawiony zdolności transdukcji sygnału. Zatem w obu przypadkach jest gen, jest białko i jest brak aktywności.

Ocena końcowa

W mojej ocenie przedstawiona do recenzji praca doktorska dotyczy istotnego zagadnienia naukowego, dobrano odpowiednie modele i metody badawcze, uzyskano istotne wyniki, które przedyskutowano z aktualną literaturą. Uzyskane wyniki mogą mieć ponadto znaczenie praktyczne.

Pracę doktorską Pana mgr. Marka Adamowskiego oceniam pozytywnie, spełnia ona według mnie ustawowe kryteria dla uzyskania stopnia naukowego doktora. Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pana mgr. Marka Adamowskiego do dalszych etapów postępowania.

Poznań, dnia 13 września 2023 roku