



Gdańsk, 17.11.2025 r.

Dr hab. Anna Wardowska
Katedra i Klinika Reumatologii, Immunologii Klinicznej,
Geriatрії i Chorób Wewnętrznych
Wydział Lekarski
Gdański Uniwersytet Medyczny

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Daria Kamińska
pt. „Rola prenylacji białek w komórkach układu odpornościowego i
komórkach β wysp trzustkowych”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Darii Kamińskiej pt. „Rola prenylacji białek w komórkach układu odpornościowego i komórkach β wysp trzustkowych” została wykonana na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej, pod promotorstwem dr hab. Edyty Gendaszewskiej-Darmach, prof. uczelni i dr hab. inż. Katarzyny Błażewskiej, prof. uczelni.

Układ rozprawy jest typowy dla prac o charakterze oryginalnym, z wyraźnym podziałem na wstęp teoretyczny, cel pracy, materiały i metody, wyniki oraz dyskusję tych wyników. Doktorantka rozpoczyna swoją pracę streszczeniami w języku polskim i angielskim, a kończy ją podsumowaniem, po którym umieszczono wykaz skrótów stosowanych w rozprawie oraz bibliografię. Na końcu pracy znajduje się również podrozdział opisujący bogaty dorobek naukowy Doktorantki. Rozprawę wzbogacają liczne, bardzo dokładnie opracowane ryciny i tabele, odpowiednio rozmieszczone w poszczególnych częściach. W tym miejscu chciałabym podkreślić wysoką jakość edytorską pracy, która znacząco ułatwia czytanie i analizę przedstawionych danych.

W swojej rozprawie Doktorantka podejmuje temat dość nieoczywistego powiązania dwóch problemów typowych dla krajów wysoko rozwiniętych: cukrzycy typu 2 oraz długofalowego stosowania statyn związanych z hipercholesterolemią. Elementami łączącymi oba zjawiska są cykl kwasu miewalonowego i zjawisko prenylacji małych GTPaz.



Wstęp teoretyczny Doktorantka rozpoczęła od przedstawienia cukrzycy typu 2 jako choroby cywilizacyjnej, a także omówiła potencjalną patologiczną zależność między stosowaniem statyn a zaburzeniami funkcji enzymów szlaku kwasu mewalonowego, co może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia cukrzycy. Na kolejnych stronach szczegółowo przedstawia mechanizmy szlaku kwasu mewalonowego, zjawisko prenylacji oraz rodzinę małych GTPaz podlegających tej potranslacyjnej modyfikacji. Część ta została bardzo dobrze uzupełniona bogatymi rycinami i tabelami. Ciekawym elementem wstępu jest także przedstawienie zależności między prenylacją a dietą. Następnie Doktorantka przechodzi do omówienia komórek krwi obwodowej. Fragment ten przygotowano z wyjątkową starannością, co widoczne jest w liczbie podrozdziałów poświęconych poszczególnym subpopulacjom układu odpornościowego oraz w barwnych rycinach prezentujących mechanizmy ich działania. Mimo ogólnie pozytywnego odbioru tej części, uważam, że jest ona nadmiernie rozbudowana (stanowi ponad 50% wstępu). Utrudnia to śledzenie głównego toku wyводу, a momentami może powodować zagubienie czytelnika z powodu nadmiaru informacji. Skrócenie tej części nie umniejszyłoby wartości pracy — wręcz przeciwnie, pozwoliłoby na płynniejsze przejście do celów badawczych. Podkreślić jednak należy doskonałą znajomość literatury wykazaną przez Doktorantkę.

Cel pracy został przygotowany wzorcowo. Doktorantka przedstawiła hipotezy badawcze rozprawy, a następnie cele szczegółowe, uwzględniając zastosowanie dwóch modeli badawczych: linii komórkowych oraz ludzkich komórek krwi obwodowej. Doktorantka postawiła sobie za zadanie analizę znaczenia enzymów szlaku kwasu mewalonowego i prenylotransferaz w funkcjonowaniu komórek β trzustki i komórek tucznych, a także komórek układu odpornościowego, oraz próbę wyjaśnienia roli tych białek w patogenezie cukrzycy typu 2.

Część eksperymentalna, obejmująca rozdziały „Materiały i metody” oraz „Wyniki”, stanowi kluczowy element pracy doktorskiej. Doktorantka skrupulatnie opisała wykorzystane inhibitory enzymów, linie komórkowe (MIN6 i RBL-2H3), scharakteryzowała osoby zrekrutowane do badania oraz wymieniła wszystkie odczynniki, materiały i sprzęty używane podczas realizacji projektu. Bardzo szczegółowe opisy metodyczne — wsparte licznymi schematami, wzorami matematycznymi i tabelami — umożliwiają odtworzenie badań w innym laboratorium.



Przedstawienie wyników rozpoczęło od analizy linii komórkowych. Doktorantka szczegółowo omówiła wpływ inhibitorów enzymów szlaku kwasu mewalonowego oraz inhibitorów prenylotransferaz na komórki β trzustki mysiej linii MIN6, wskazując najbardziej cytotoksyczne związki (m.in. lowastatynę i lonafernib). Wykazała również, że działanie tych związków wpływa na wydzielanie insuliny stymulowane glukozą — dwa inhibitory (kwas ryzedronowy i bifosfonian digeranylu) istotnie obniżyły sekrecję insuliny. Kolejne analizy ukazały zahamowanie prenylacji małych GTPaz (Rab11A oraz Rap1A/Rap1B) przez lowastatynę, atorwastatynę oraz bifosfonian digeranylu. Co interesujące, część badanych substancji wykazała efekt odwrotny, zmniejszając ilość nieprenylowanych białek we frakcji cytoplazmatycznej (np. kwas ryzedronowy czy inhibitor kinazy ROCK — H-1152).

W dalszej części wyników Doktorantka przedstawiła oddziaływanie inhibitorów na komórki tuczne linii RBL-2H3. Komórki te okazały się wrażliwe na część związków w wybranych stężeniach (m.in. na atorwastatynę i lonafernib). Efekt działania inhibitorów przejawiał się również istotnym spadkiem degranulacji komórek. Ostatnia analiza w tym cyklu dotyczyła inhibicji prenylacji małych GTPaz (Rab11A, Rap1A, Rap1B oraz Ras). Badania wykazały, że inhibitory istotnie zmniejszają aktywność prenylotransferaz, co odnotowano jako spadek poziomu prenylowanych GTPaz, przy czym w niektórych przypadkach efekt ten był bardzo silny.

Ostatnia część wyników dotyczy analizy jednojądrzastych komórek krwi obwodowej osób zdrowych oraz chorych na cukrzycę typu 2. Jest to obszerny fragment opisujący wykorzystanie dwóch technik: real-time PCR oraz cytometrii przepływowej. Doktorantka szczegółowo przedstawiła proces optymalizacji starterów umożliwiających identyfikację mRNA badanych enzymów, opisując problemy techniczne i metody ich eliminacji. Następnie zaprezentowała wyniki ekspresji badanych genów. Optymalizacja analizy cytometrycznej była częścią, która w największym stopniu przykuła moją uwagę. Doktorantka dokładnie przedstawiła miareczkowanie przeciwciał i wyznaczenie minimalnej liczby komórek do analizy, a następnie omówiła walidację wielokolorowego barwienia PBMC. Po zapoznaniu się z tymi podrozdziałami miałam pewne poczucie zagubienia — trudne było uchwycenie logiki kolejnych etapów analizy. Prosiłabym, aby Doktorantka podczas obrony wyjaśniła genezę i logikę przyjętej strategii optymalizacji. W kontekście informacji o użyciu kulek kalibracyjnych proszę również o doprecyzowanie celu ich zastosowania. Zastanawia także kwestia nakładania się widm emisji fluorochromów, co może powodować zjawisko „spillover”. Zaprezentowane przez Doktorantkę ryciny



(68, 69, 74, 78 i 80) wskazują, że część kombinacji fluorochromów mogła generować takie ryzyko. Uwzględnienie tego na etapie planowania panelu cytometrycznego mogłoby ułatwić optymalizację – czemu nie zostało to wzięte pod uwagę przed przystąpieniem do pracy w laboratorium? Proszę również o wyjaśnienie, dlaczego kompensację sygnałów fluorescencyjnych wykonano dopiero na etapie analizy danych, a nie w samym cytometrze? Niezależnie od trudności, Doktorantka wykonała zaplanowane oznaczenia i w precyzyjny sposób wykazała poziomy ekspresji badanych enzymów w wybranych subpopulacjach PBMC, co wzbogaciła przejrzystymi schematami bramkowania oraz tabelą podsumowującą wyniki. Wartością dodaną tej części pracy jest podrozdział korelujący wyniki uzyskane w PBMC z danymi klinicznymi — stanowi on znakomite podsumowanie badań i podkreśla ich znaczenie translacyjne.

W dyskusji Doktorantka potwierdziła doskonałą znajomość tematyki oraz wykazała się dużą umiejętnością syntezy wyników własnych z danymi literaturowymi. Jestem pod wrażeniem liczby informacji i sposobu ich opracowania. Wątpliwości pojawiające się podczas lektury wcześniejszych części pracy zostały w dyskusji całkowicie rozwiane. Bardzo dobrze przedstawiono wątek dotyczący linii RBL-2H3, który uzasadnił wybór tej linii w prezentowanych badaniach i spójnie powiązał eksperymenty na komórkach β trzustki z analizami immunologicznymi. Podkreślić należy także klarowną tabelę podsumowującą badania na liniach komórkowych. Analizy ekspresji genów i wyniki cytometrii wskazują na wzmożoną aktywność enzymów szlaku kwasu miewalonowego i prenylotransferaz, co Doktorantka próbowała powiązać z doniesieniami dotyczącymi wpływu cholesterolu na funkcjonowanie komórek układu odpornościowego. Doktorantka słusznie podkreśla potrzebę kontynuacji i rozszerzenia badań, co stanowi szansę na precyzyjne określenie zależności między aktywnością enzymów, cholesterolem a stanem zapalnym u pacjentów z cukrzycą. Dyskusję zamyka omówienie korelacji pomiędzy parametrami immunologicznymi a danymi klinicznymi uczestników badania. Tu również Doktorantka wykazała się umiejętnością logicznego łączenia faktów oraz formułowania trafnych wniosków. Istotnym elementem jest przedstawienie zarówno ograniczeń, jak i mocnych stron pracy — świadczy to o dojrzałości naukowej Autorki i zrozumieniu wpływu różnych czynników na wiarygodność wyników.



W podsumowaniu, kończącym merytoryczną część rozprawy, Doktorantka potwierdza hipotezy badawcze przedstawione w części „Cel pracy”. Podkreśla również innowacyjność badań, ich potencjalny charakter translacyjny oraz wskazuje możliwe kierunki dalszych analiz.

Podsumowanie końcowe

Przedstawiona do recenzji rozprawa mgr inż. Darii Kamińskiej jest przykładem dobrze zaplanowanej i rzetelnie zrealizowanej pracy doktorskiej. Autorka wykazuje się dużą wiedzą teoretyczną, umiejętnością doboru literatury oraz formułowania hipotez badawczych. Na uwagę zasługuje staranne zaplanowanie eksperymentów, dobór odpowiednich technik analitycznych oraz przeprowadzenie walidacji metod, co umożliwiło uzyskanie wiarygodnych wyników i wartościowych wniosków. Doktorantka zaprezentowała kompetencje, które powinny cechować młodego naukowca. Jej dodatkowym atutem jest doświadczenie zdobyte w różnych zespołach badawczych, potwierdzone m.in. stażem w ośrodku naukowym w Chinach oraz bogatym dorobkiem publikacyjnym.

Praca cechuje się dużą innowacyjnością oraz znaczącym potencjałem rozwojowym i aplikacyjnym. Przedstawione badania stanowią istotny wkład w rozwój wiedzy na temat patomechanizmów cukrzycy typu 2. W dłuższej perspektywie uzyskane wyniki mogą przyczynić się do zmian w podejściu terapeutycznym oraz do lepszego monitorowania pacjentów leczonych substancjami hamującymi aktywność enzymów szlaku kwasu miewalonowego, prenylotransferaz i kinazy ROCK.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Darii Kamińskiej pt. „Rola prenylacji białek w komórkach układu odpornościowego i komórkach wysp β trzustki” spełnia warunki określone w art. 187 z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i wnioskuje do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Politechniki Łódzkiej o dopuszczenie Darii Kamińskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

Anna Wardowska
dr hab. Anna Wardowska