



**UNIwersytet Medyczny w Białymstoku**  
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCZYNY LABORATORYJNEJ

**Zakład Bromatologii**  
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D  
Tel./Fax.(85) 748-54-68

[borawska@umb.edu.pl](mailto:borawska@umb.edu.pl); [mh.borawska@gmail.com](mailto:mh.borawska@gmail.com)

**Prof. dr hab. n. farm. Maria H. Borawska**

**Białystok, 20.11.2021 r.**

## **RECENZJA**

**rozprawy doktorskiej mgr Kingi Gawlińskiej pt.: "Wpływ zmodyfikowanej diety matki na fenotyp potomstwa: korelacje behawioralne i molekularne"**

wykonanej w Zakładzie Farmakologii Uzależnień Instytutu Farmakologii  
im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk

*Promotor pracy: Prof. dr hab. Edmund Przegaliński*

*Promotor pomocniczy: dr hab. Michał Korostyński*

Niniejszą rozprawę doktorską stanowi cykl pięciu prac oryginalnych i jednej pracy przeglądowej, opublikowanych w renomowanych czasopismach zagranicznych o łącznym współczynniku Impact Factor równym 31,249.

Przedmiotem badań stanowiących treść rozprawy doktorskiej jest ocena możliwych zaburzeń behawioralnych i zmian molekularnych w mózgach szczurów obu płci po karmieniu ich matek, w czasie ciąży i laktacji, trzema różnymi rodzajami diet: wysokotłuszczowej (60% tłuszcze i 24% węglowodany), wysokowęglowodanowej (70% węglowodany; w tym 40% sacharozy i 12% tłuszcze) oraz mieszanej (28% tłuszcze i 56% węglowodany).

Od dawna obserwuje się silne powiązania, szczególnie między różnymi dietami wysokotłuszczowymi a zaburzeniami metabolicznymi takimi jak: otyłość, cukrzyca i choroby sercowo-naczyniowe. Sugeruje się także, że narażenie na diety wysokotłuszczowe i wynikające z nich dysfunkcje metaboliczne mogą mieć istotny wpływ na zachowanie, funkcje poznawcze i mózg. Potomstwo jest niezwykle wrażliwe na metaboliczne bodźce środowiskowe lub urazy podczas ciąży i laktacji, co może skutkować zmianą fizjologii przez całe życie, zjawiskiem znanym jako „programowanie

metaboliczne”. Wykazano u szczurów płci męskiej, że dieta wysokotłuszczowa i bogata w cukier zwiększała masę ciała, otyłość trzewną i zmniejszyła masę podwzgórza u samców szczurów odsadzonych od matki.

Otyłość dziecięca u ludzi wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zaburzeń psychicznych i behawioralnych, które obejmują depresję i lęk (Rofey i in., 2009), zaburzenia ze spektrum autyzmu (ASD) (Angelidou i in., 2012), deficyty w uczeniu się i zaburzenie koncentracji uwagi (Cserjesi i in., 2007). Co więcej, otyli dorośli są o 20% bardziej narażeni na zaburzenia depresyjne w porównaniu z osobami bez otyłości. Biorąc pod uwagę silne korelacje między klinicznie istotnym przyrostem masy ciała, depresją i lękiem, aktualnym obszarem zainteresowania jest związek między psychopatologią a masą ciała w dzieciństwie. Przeprowadzone badania wykazały, że dzieci z zaburzeniami emocjonalnymi miały wyższe percentyle BMI niż ich niekliniczne odpowiedniki. Lęk był związany z podwyższonym BMI zarówno u chłopców, jak i dziewcząt, a depresja była związana z podwyższonym BMI tylko u dziewcząt.

Pomimo znacznego wzrostu autyzmu, niewiele jest wskazówek dotyczących jego patogenezы, co utrudnia wczesne wykrycie lub leczenie. Zidentyfikowano wiele genów „podatności” na autyzm, ale czynniki „środowiskowe” wydają się odgrywać znaczącą rolę. Coraz więcej dowodów sugeruje, że istnieją różne endofenotypy autyzmu. Wskazano, że na etiologię autyzmu mogą mieć wpływ warunki rodzicielskie oraz czynniki *in utero* i okołoporodowe. Ostatnio zmiany epigenetyczne, w tym metylacja DNA i zmiany mikroRNA, zostały powiązane z autyzmem i zaproponowane jako potencjalne biomarkery.

Jednak mechanizmy działające w czasie ciąży, które pośredniczą w programowaniu wpływu różnie zmodyfikowanych diet na matkę i jej potomstwo, a szczególnie na mózg potomstwa, pozostają w dużej mierze nieznanе.

Przedstawione w rozprawie doktorskiej badania zawarte w publikacjach wpisują się w koncepcję najnowocześniejszej strategii badań odnośnie zmian w rozwoju potomstwa i ich zachowań na poziomie transkrypcji, translacji i mechanizmów epigenetycznych w przypadku braku zbilansowanej diety matki.

Publikacje wyników badań w " *Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation provokes depressive-like behavior and influences the irisin/brain-derived neurotrophic*

*factor axis and inflammatory factors in male and female offspring in rats*" [2019] i "Maternal dietary patterns are associated with susceptibility to a depressive-like phenotype in rat offspring." [2021a] potwierdzają znaczenie diety bogatołuszczowej matki w powstawaniu niekorzystnych zmian behawioralnych u potomstwa i wskazują na rozwój u nich fenotypu podobnego do depresji (np. wydłużony czas bezruchu). Jednocześnie u potomstwa obserwowano podwyższony poziom ekspresji korowych markerów glutaminianergicznych neuronów pobudzających oraz obniżenie ekspresji markerów hamujących interneuronów GABA-ergicznych zawierających parwalbuminę lub somatostatynę. Natomiast nie wykazano zmian poziomów BDNF (czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego, z ang. BDNF) i iryzyny w hipokampie u młodego i dorosłego potomstwa matek karmionych dietą bogatołuszczową podczas ciąży i laktacji (2019). Natomiast w publikacji " *Maternal feeding patterns affect the offspring's brain: focus on serotonin 5-HT<sub>2C</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors.*" [2021b] wykazano, że zmodyfikowana dieta prenatalna i wczesna postnatalna (głównie bogatołuszczowa) jedynie moduluje ekspresję receptorów 5-HT<sub>2C</sub> i 5-HT<sub>2A</sub> w strukturze mózgu potomstwa.

Kolejnym wyzwaniem była ocena wpływu diety bogatołuszczowej, wysokowęglowodanowej i mieszanej matki w okresie ciąży i laktacji na profil ekspresji genów związanych z autyzmem w obrębie kory przedczołowej oraz wpływu matczynej diety bogatołuszczowej (od okresu dojrzewania do wczesnej dorosłości) na zmiany w zachowaniach społecznych oraz w białkach związanych z autyzmem i mechanizmami epigenetycznymi metylacji DNA lub ekspresji mikroRNA (publ. " *Alteration of the early development environment by maternal diet and the occurrence of autistic-like phenotypes in rat offspring*" [2021c]). Wysokotłuszczowa dieta matki (HFD) zaburzała ekspresję genów związanych z autyzmem (*Cacna1d*, *Nlgn3* i *Shank1*) zwiększała globalną metylację DNA w korze przedczołowej (PFCx) dorastającego potomstwa płci męskiej. Wśród analizowanych białek, zaobserwowano istotny wzrost poziomu SHANK1 i TAOK2 w grupie potomstwa płci męskiej w okresie dojrzewania, ale nie samic. Natomiast powrót do w pełni zbilansowanej diety po laktacji może ograniczyć niektóre negatywne zmiany u potomstwa.

W toku dalszych badań (publ. " *A maternal high-fat diet during early development provokes molecular changes related to autism spectrum disorder in the rat offspring*

*brain*" [2021d] Doktorantka wraz z Zespołem potwierdziła, że wysokotłuszczowa dieta matki w czasie ciąży i laktacji zmienia poziom białek związanych z zaburzeniami ze spektrum autyzmu w hipokampie młodych dorosłych potomków oraz globalną metylację DNA w korze czołowej i hipokampie.

Ostatnia cytowana publikacja "*Relationship of maternal high-fat diet during pregnancy and lactation to offspring health*" [2021e] analizuje przegląd badań przedklinicznych odnośnie związku pomiędzy dietą wysokotłuszczową matki podczas ciąży lub laktacji a zmianami metabolicznymi, zmianami molekularnymi w mózgu i zaburzeniami zachowania u potomstwa (wzmoczone zachowania depresyjne i agresywne, zmniejszony rozwój poznawczy) oraz objawami zespołu metabolicznego. Odżywianie matki wpływa na rozwój neuronów i układów neuroprzebieżników oraz odgrywa rolę w wielu procesach niezbędnych dla optymalnego funkcjonowania ośrodkowego układu nerwowego.

Podjęcie przez Doktorantkę niniejszego tematu badawczego uważam za uzasadnione i niezwykle ważne z punktu widzenia zarówno niewłaściwego odżywiania się kobiet w ciąży, jak i urodzonych dzieci z autyzmem czy depresją i lękiem. Działalność badawcza w tym zakresie jest innowacyjnym i twórczym wkładem do nowoczesnego systemu zapewnienia zdrowia matek i dzieci poprzez właściwe odżywianie oraz może przyczynić się do prewencji chorób psychicznych i neurorozwojowych. W ostatnich latach zagadnienia te stanowią przedmiot coraz intensywniejszych badań. Świadczy o tym aktualna literatura dotycząca tych zagadnień, zamieszczona w piśmiennictwie rozprawy doktorskiej. Na jej podstawie Doktorantka opracowała syntetyczny wstęp.

Wiarygodność swoich badań Doktorantka potwierdziła szeregiem testów istotności statystycznej. Dane analizowano za pomocą dwukierunkowej analizy ANOVA (dieta × płeć), a następnie poprzez zastosowanie testów porównań wielokrotnych, tzw. testów post hoc (między innymi Bonferroniego przy użyciu oprogramowania GraphPad Prism 9.1.0. , Newman-Keulsa, czy Tukeya).

Treść pracy doktorskiej została przedstawiona w postaci 6 publikacji. Stanowią one obszerną dokumentację ogromu pracy doświadczalnej i koncepcyjnej Doktorantki. Szczególną uwagę zwraca opanowanie nowoczesnego i innowacyjnego warsztatu badawczego, doświadczenie i profesjonalizm badawczy, które pozwoliły zapewnić wysoką jakość i rzetelność badań. Opis publikacji zawiera elementy „Dyskusji” które

doskonale interpretują uzyskane wyniki badań na podstawie badań własnych i aktualnej literatury przedmiotu. Pozwala to bardzo pozytywnie ocenić specjalistyczną wiedzę Doktorantki, umiejętność rozwiązywania problemów badawczych, korzystania z literatury stanowiącej przedmiot pracy oraz interpretacji wyników.

Na podstawie wyników obszernych badań Doktorantka sformułowała 6 wniosków podsumowujących. Odzwierciedlają one najistotniejsze elementy poznawcze pracy.

Niemniej jednak niektóre zagadnienia zamieszczone w opublikowanych pracach rodzą pytania lub mogą stanowić przedmiot dyskusji, na przykład:

- *Wskazane byłoby szersze omówienie układu endokannabinoidowego w autyzmie. Wiemy, że endokannabinoidy aktywnie równoważą połączenia nerwowe, umożliwiając komórkom aktywację lub hamowanie się nawzajem. Wobec tego, czy podawanie olejków CBD (kannabidiol) i CBDV (kannabidiwarin) matkom gryzoni, które zwiększają poziomy endokannabinoidów bez negatywnych skutków bezpośredniej modulacji CB1r., może zapobiegać tym obserwowanym zmianom u potomstwa?*
- *Jak zwiększony stres oksydacyjny w autyzmie, może przyczyniać się do rozwoju tej choroby zarówno pod względem patogenezy, jak i objawów klinicznych; tym bardziej, że ludzie nie wytwarzają wit. C jak szczury ?*
- *Czy predyspozycje genetyczne do wysokiej zdolności metabolizowania np. tłuszczów w diecie, mogą zabezpieczać fenotyp potomstwa przed niekorzystnymi zmianami?*
- *Sugerowałabym w języku polskim używać polskich określeń dla słowa "abundancja" z języka hiszpańskiego.*
- *Określenie "używki" (Ryc.1 na str.23 oprac.) zostały wykreślone z polskich przepisów prawnych po przyjęciu rozporządzeń unijnych odnośnie żywności; należy podać konkretne przykłady.*

Powyższe uwagi nie mają wpływu na moją, w pełni pozytywną ocenę rozprawy, a przedstawione pytania sugerują jedynie uzupełnienie nowych kierunków badań

**Indywidualny wkład Doktorantki *mgr Kingi Gawlińskiej* w powstanie tej rozprawy doktorskiej, jako zbioru poszczególnych pięciu publikacji, polegał na przygotowaniu zwierząt w badanych modelu eksperymentalnym, opracowaniu koncepcji**

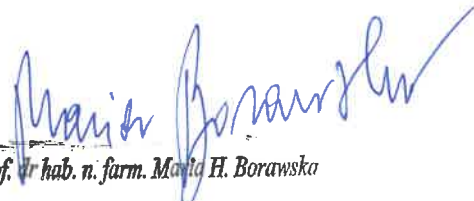
badań, wykonaniu testów behawioralnych i doświadczeń molekularnych, analizie wyników badań i przygotowaniu manuskryptów, a także pozyskania finansowania w ramach przyznanego grantu z NCN - PRELUDIUM 15. Natomiast w przypadku szóstej publikacji [2021e] polegał na zebraniu i opracowaniu danych literaturowych oraz przygotowaniu manuskryptu, co jest zgodne z oświadczeniami pozostałych Współautorów.

Przedstawiona do oceny rozprawa pt.: "Wpływ zmodyfikowanej diety matki na fenotyp potomstwa: korelacje behawioralne i molekularne" spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora.

**Rozprawa doktorska mgr Kingi Gawlińskiej jest pracą wartościową, poprawnie przygotowaną warsztatowo i wnosi nowe elementy poznawcze w zakresie poszerzenia wiedzy w ocenie zmian chorobowych u dzieci i młodzieży z autyzmem, depresją (tj. ciężkim zaburzeniem depresyjnym) i lękiem (tj. zaburzeniem lękowym uogólnionym, fobią społeczną) oraz możliwości zapobiegania tym zmianom w odniesieniu do rodzaju diety stosowanej przez matki w ciąży i okresie laktacji.**

**Wnoszę o wyróżnienie niniejszej rozprawy, której oryginalna koncepcja i wyniki badań, doskonale wpisują się w nowy kierunek badań dotyczący potrzeby znalezienia skutecznych metod diagnostycznych i oceny jak największej liczby czynników ryzyka autyzmu, depresji i lęku dzieci - nie tylko genetycznych, ale także epigenetycznych i środowiskowych (bez pominięcia również interakcji genetyczno/środowiskowych), gdzie czynniki ryzyka wpływają na siebie nawzajem.**

**Reasumując, wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o dopuszczenie mgr inż. Kingi Gawlińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego o nadanie stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne.**

  
prof. dr hab. n. farm. Maria H. Borawska



**UNIwersytet Medyczny w Białymstoku**  
**Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej**

**Zakład Bromatologii**  
**15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D**  
Tel./Fax.(85) 748-54-68

[borawska@umb.edu.pl](mailto:borawska@umb.edu.pl); [mh.borawska@gmail.com](mailto:mh.borawska@gmail.com)

Białystok, 20.11.2021 r.

**Przewodniczący Rady Naukowej**  
**Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja**  
**Polskiej Akademii Nauk**  
**Prof. dr hab. Jerzy Łazarewicz**

Szanowny Panie Profesorze,

W załączeniu przesyłam opinię o rozprawie doktorskiej mgr Kingi Gawlińskiej pt.: "Wpływ zmodyfikowanej diety matki na fenotyp potomstwa: korelacje behawioralne i molekularne" wykonanej w Zakładzie Farmakologii Uzależnień Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk.

Uprzejmie informuję, że bardzo wysoko oceniam przedmiotową rozprawę doktorską i składam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk o jej wyróżnienie.

Głównym argumentem przemawiającym za wyróżnieniem niniejszej pracy jest jej oryginalna nowa koncepcja i multi-dyscyplinarność, łącząca wysokospecjalistyczną technologię badań, bazującą na obszernej wiedzy z zakresu dietetyki, genetyki i zaburzeń behawioralnych oraz statystyki.

Wyróżnia tą pracę doskonała logistyka planu badawczego, która łącznie z zastosowanymi technikami tworzy nowoczesny warsztat laboratoryjny.

Uważam ponadto, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Kingi Gawlińskiej jest innowacyjnym i twórczym wkładem do nowoczesnego systemu zapewnienia zdrowia matek i dzieci poprzez właściwe odżywianie oraz może przyczynić się do prewencji chorób psychicznych i neurorozwojowych. W ostatnich latach zagadnienia te stanowią przedmiot coraz intensywniejszych badań.

Badania stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w wysokospecjalistycznych czasopismach o zasięgu międzynarodowym i wysokim wskaźniku oddziaływania (IF= 31,249). Uwagę zwraca intensywna działalność publikacyjna Doktorantki w okresie ostatnich kilku lat (sumaryczny IF= 90,429 opublikowanych 18 prac, H-index = 6, łączna liczba cytowań = 60).

Z wyrazami szacunku i poważania

prof. dr hab. n. farm. Maria H. Borawska