



POLITECHNIKA POZNAŃSKA
WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ
INSTYTUT CHEMII I ELEKTROCHEMII TECHNICZNEJ
ZAKŁAD CHEMII OGÓLNEJ I ANALITYCZNEJ



dr hab. inż. Agnieszka Zgoła-Grzeškowiak, prof. PP

Poznań, 06.03.2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Średnickiej
pt. „Interakcje związków endokrynnie czynnych obecnych w żywności z mikrobiotą jelitową
człowieka” wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Marka Roszko, prof. IBPRS-PIB
oraz dr hab. inż. Edyty Juszcuk-Kubiak, prof. IBPRS-PIB
w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowym Instytucie Badawczym

Podstawą wydania oceny jest pismo Dyrektora Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowego Instytutu Badawczego z dnia 16 grudnia 2024 r. oraz uchwała Rady Naukowej nr X/147/2024 Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowego Instytutu Badawczego z dnia 12 listopada 2024 r.

Dobór i znaczenie tematu

Pani mgr Paulina Średnicka podjęła w ramach rozprawy doktorskiej bardzo istotną tematykę, jaką jest oddziaływanie związków endokrynnie czynnych z mikrobiotą jelitową. Temat ten jest niezwykle ważny, gdyż związki takie są szeroko rozpowszechnionymi zanieczyszczeniami występującymi nie tylko w środowisku, ale również w żywności. Udowodniono, że związki endokrynnie czynne mają wpływ na funkcjonowanie układu hormonalnego poprzez blokowanie odpowiedzi komórkowej lub naśladowanie naturalnych hormonów. Przekłada się to na zdrowie człowieka oraz innych organizmów żywych. Wśród tych związków bisfenol A cieszy się złą prasą i czynione są starania w kierunku jego wyeliminowania i zastąpienia przez inne związki, w tym bisfenol S czy F, które niestety również są związkami o działaniu zakłócającym równowagę hormonalną.

Stwierdzam zatem, że wybór tematu rozprawy jest właściwy oraz w pełni uzasadniony. Zaproponowana w pracy metodyka badawcza pozwoliła na określenie wpływu związków endokrynnie czynnych z grupy bisfenoli na mikrobiotę jelitową człowieka. Istotną wartością poznawczą jest również zbadanie wpływu zastosowanych warunków hodowli mikrobioty jelitowej na jej skład.

Struktura pracy – ocena formalna

Przedstawiona do recenzji rozprawa liczy ponad 200 stron, w tym 4 publikacje, których współautorką jest Pani mgr Paulina Średnicka, a które są podstawą do oceny tejże pracy. Zawiera ona 2 tabele, 12 rysunków i 193 pozycje literaturowe pochodzące w zdecydowanej większości z ostatniego dziesięciolecia. W części pierwszej praca zawiera wstęp, przegląd piśmiennictwa liczący 23 strony, w którym Autorka przedstawia istotność podjętych badań, a także wyraźnie zdefiniowane cel pracy i hipotezy badawcze. W drugiej części pracy Autorka zawarła jej zakres w formie schematu oraz liczący 9 stron opis użytego materiału biologicznego i metodyki badań. Trzecia część pracy zawiera opis wyników opublikowanych i nieopublikowanych. Wyniki nieopublikowane są szczegółowo opisane, ponieważ Autorka nie założyła opublikowania swojej czwartej pracy. Stąd opis i rysunki w dużej mierze powtarzają się z zamieszczoną na końcu pracy ostatnią publikacją Autorki. Na końcu rozprawy znajdują się wnioski i podsumowanie.

Ocena merytoryczna pracy

Autorka podejmuje bardzo istotny problem wpływu związków endokrynnie czynnych z grupy bisfenoli na mikrobiotę jelitową człowieka. Praca wykonana jest bardzo metodycznie uwzględniając istotne czynniki mogące mieć wpływ na otrzymane wyniki badań. Pierwszym etapem pracy było zbadanie wpływu zastosowanych warunków hodowli mikrobioty jelitowej na jej skład. W badaniach zastosowano ujednorodniony materiał biologiczny pobrany od kilkunastu zdrowych dawców. Zbadano wpływ różnych podłoży hodowlanych na profil taksonomiczny mikrobioty jelitowej i wykazano istotne różnice tych profili. Oceniono wpływ mediów hodowlanych na funkcje metaboliczne mikroflory oraz na powstawanie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Niestety Autorka nie podaje w pracy [P3] czy i w jaki sposób uwzględniono obecność tych kwasów w 2 z 4 testowanych pożywek. Są też inne nieścisłości, na przykład brakuje nazwy odczynnika użytego do derywatyzacji krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Ponadto pewne wątpliwości może też budzić niezgodność opisanej w punkcie 3 pracy doktorskiej metodyki badań metabolomicznych z tą podaną w publikacji [P3], bowiem opis z punktu 3 pracy odnosi się tylko do publikacji [P4]. Kolejnymi nieścisłościami jest zakres wieku donorów mikrobioty jelitowej (w tekście publikacji 25-35 lat, w Tabeli S1 suplementu 24-43 lat) oraz ich dieta (w publikacji tradycyjna, w Tabeli S1 suplementu tradycyjna lub fleksitarianizm).

W drugim etapie pracy Doktorantka zajęła się badaniem interakcji związków endokrynnie czynnych z mikrobiotą jelitową. Interesującym wstępem do tych badań jest przegląd literaturowy udokumentowany w postaci dwóch publikacji przeglądowych [P1] i [P2]. W publikacji [P1] Autorka przedstawiła dotychczas publikowane prace w zakresie wpływu związków endokrynnie czynnych na mikrobiotę jelitową. Zgodnie z tytułem pracy powinien być to wpływ na mikrobiotę jelitową człowieka. Tymczasem w treści skupiono się głównie na mikrobiocie innych organizmów, takich jak myszy, szczury, psy i króliki. Niemniej jednak praca [P1] w znakomity sposób wprowadza czytelnika do wykonanych przez Doktorantkę badań. Między innymi wspomniane jest w niej skorelowanie obecności bisfenolu A z dysbiozą mikrobioty jelitowej, co w sposób jednoznaczny potwierdza konieczność przeprowadzenia dogłębnej analizy wpływu związków endokrynnie czynnych z tej grupy na mikrobiotę jelitową.

W publikacji [P2] Doktorantka napisała, jak istotny jest wpływ probiotyków na ochronę organizmów przeciwko ksenobiotykom. Przedstawione są mechanizmy detoksyfikacji oraz główne grupy ksenobiotyków lub pojedyncze wybrane związki, np. bisfenol A. W pracy [P2] Autorka opisała również wpływ probiotyków na ekspresję genów, przenikalność jelitową oraz stres oksydacyjny. Jest to znakomita praca, która znalazła szerokie zainteresowanie w środowisku naukowym. Jednakże do publikacji wkraść się pewien błąd. Na stronie 2 publikacji znajduje się informacja o wpływie bisfenolu A na syntezę krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Zacytowana literatura (Yu i Schwabe, 2017) nie zawiera tej informacji. Powinna być zacytowana publikacja (Reddivari i wsp., 2017).

Bardzo istotne zadania badawcze Doktorantka opisała w ramach swojej czwartej publikacji [P4]. W publikacji tej Autorka przedstawiła wpływ czterech wybranych bisfenoli na profil taksonomiczny mikrobioty jelitowej. W ramach przedstawionych badań wykazane zostały istotne zmiany obfitości poszczególnych taksonów bakteryjnych. Przeprowadzona analiza PCA wykazała istotne zmiany względnej obfitości szlaków metabolicznych dla bisfenoli A, S i F lecz już nie dla bisfenolu TMBPF. W publikacji [P4] Autorka opisała również jaki wpływ na produkcję krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych wywiera ekspozycja mikrobioty na bisfenole. Istotne różnice dla całkowitego stężenia tych kwasów zaobserwowano dla bisfenoli A, S i F, co w znacznej mierze spowodowane jest różnicami odnotowanymi dla kwasów izowalerianowego i izomasłowego. Dla tych samych trzech bisfenoli odnotowano też ich wpływ na profil metaboliczny mikrobioty jelitowej, podczas gdy dla TMBPF analiza głównych czynników wykazała najmniejszy wpływ na profil metabolitów, który był zbliżony do grupy kontrolnej. Doktorantka odnotowała też statystycznie istotne obniżenie stężeń bisfenoli przez mikrobiotę jelitową, szczególnie TMBPF. Warto tu jednakże wspomnieć, że w publikacji [P4] nie przedstawiono wyników walidacji metody oznaczania bisfenoli, co czyni otrzymane wyniki zawartości bisfenoli niepewnymi. W pracy zaobserwowano też, że bisfenole A, F i S działają jako agoniści receptorów estrogennych. Co istotne, w supernatantach po hodowli mikrobioty z bisfenolami A, F i S odnotowano znaczące obniżenie aktywności estrogenowej. Natomiast podczas oceny cytotoksyczności istotne obniżenie żywotności komórek uzyskano dla testów z bisfenolami A, F i TMBPF. Warto podkreślić, iż przedstawione w publikacji [P4] badania potwierdziły wszystkie stawiane w pracy hipotezy, tj. istotny wpływ bisfenoli na zaburzenie struktury taksonomicznej mikrobioty jelitowej, zdolność mikrobioty do eliminacji bisfenoli, modyfikację aktywności biologicznej bisfenoli przez mikrobiotę skutkującą zmianą ich cytotoksyczności oraz potencjału endokrynnego.

Podsumowując, Pani mgr Paulina Średnicka przeprowadziła bardzo szeroki przegląd literaturowy oraz wykonała szeroko zakrojone badania dotyczące interakcji bisfenoli z mikrobiotą jelitową człowieka. Przedstawiona rozprawa zawiera niewątpliwie bogaty i wartościowy materiał doświadczalny będący nowością naukową stanowiącą istotny wkład w rozwój nauki. Zaplanowane cele i zadania zostały w pełni wykonane. Realizacja badań wymagała od Doktorantki nie tylko dużej wiedzy teoretycznej, ale i umiejętności pracy z różnego rodzaju aparaturą instrumentalną. Wykonała również zaawansowaną obróbkę statystyczną otrzymanych wyników. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest nowatorska oraz oryginalna. Wartość poznawcza przedłożonej do oceny pracy jest znacząca, a zamieszczone w niniejszej recenzji uwagi mają na celu jedynie doskonalenie warsztatu naukowego Doktorantki.

Podczas obrony pracy chciałabym, aby Doktorantka wskazała jakie parametry zostały uwzględnione podczas walidacji metody oznaczania bisfenoli, która była zastosowana w publikacji [P4], oraz jakie otrzymano rezultaty. Informacji tej nie znalazłam ani w publikacji ani w suplemencie.

Podsumowanie i wniosek końcowy

W podsumowaniu recenzowanej pracy doktorskiej Pani mgr Pauliny Średnickiej stwierdzam, że Doktorantka we właściwy sposób zaplanowała i przeprowadziła prace eksperymentalne mające na celu zbadanie interakcji pomiędzy związkami endokrynnie czynnymi z grupy bisfenoli a mikrobiotą jelitową. Przedstawiona do oceny praca doktorska wymagała zatem od Doktorantki dużego zaangażowania i wiedzy. W ramach pracy powstały dwie publikacje przeglądowe oraz dwie publikacje o charakterze badawczym. Podjęcie tematu pracy doktorskiej uważam za celowe i uzasadnione, a uzyskane wyniki mają ogromne znaczenie poznawcze. Szkoda jednakże, że Doktorantka nie zadbała w pełni o aspekt analityczny pracy. Większa szczegółowość w tym obszarze z pewnością przyda się w późniejszych pracach badawczych.

Reasumując, rozprawa doktorska Pani mgr Pauliny Średnickiej spełnia wymagania Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018, poz. 1668) konieczne do uzyskania stopnia naukowego doktora. Zatem wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Średnickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony.

Wniosek o wyróżnienie

Wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowego Instytutu Badawczego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Pauliny Średnickiej pt. „ Interakcje związków endokrynnie czynnych obecnych w żywności z mikrobiotą jelitową człowieka”. Wniosek ten uzasadniam wysokim poziomem i kompleksowością badań, które wykonane zostały w ramach pracy doktorskiej. Doktorantka znakomicie przygotowała grunt do głównej części badań przez określenie wpływu zastosowanych warunków hodowli mikrobioty jelitowej na jej skład. Zbadła wpływ czterech wybranych mediów na profil taksonomiczny i oceniła ich wpływ na funkcje metaboliczne mikroflory oraz na powstawanie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Doktorantka na bazie czterech wybranych bisfenoli przeprowadziła bardzo istotne badania wpływu związków endokrynnie czynnych na mikrobiotę jelitową w tym na jej profil taksonomiczny i produkcję krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Odnotowała też istotne obserwacje dotyczące działania bisfenoli jako agonistów receptorów estrogennych oraz obniżenia żywotności komórek. Zaproponowane podczas badań kompleksowe podejście jest bardzo wartościowe. Uważam, że praca doktorska Pani mgr Pauliny Średnickiej w pełni zasługuje na wyróżnienie.


dr hab. inż. Agnieszka Zgoła-Grześkowiak, prof. PP