

Prof. dr hab. Stanisław Kondracki
Instytut Zootechniki i Rybactwa
Uniwersytet w Siedlcach
ul B. Prusa 14, 08-110 Siedlce

2026-01-24

O c e n a

rozprawy doktorskiej mgr Kingi Jaskuła

pt. „The effect of opioid receptors blockade on atherosclerosis-related processes in ApoE-deficient mice”

(Wpływ zablokowania receptorów opioidowych na procesy związane z miażdżycą u myszy z wyłączonym genem ApoE)

Informacje o Kandydatce

Kinga Jaskuła urodziła się 17 kwietnia 1995 roku w Myszkowie, gdzie w 2014 roku ukończyła Liceum Ogólnokształcące im. mjr. Henryka Sucharskiego. 1 października 2015 roku rozpoczęła studia wyższe o specjalności Biotechnologia Medyczna na Wydziale Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Studia licencjackie ukończyła w 2018 roku, przygotowując pracę przeglądową pt. „Wpływ SCD1 na zawartość lipidów błony erytrocytarnej i estrów cholesterolu osocza osób otyłych”. W trakcie studiów licencjackich odbyła staż w ramach programu Erasmus+ na Uniwersytecie w Sewilli w Hiszpanii.

Studia drugiego stopnia doktorantka odbyła w Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. W 2020 roku Kinga Jaskuła uzyskała tytuł zawodowy magistra, na podstawie pracy magisterskiej pt. „Zaprojektowanie testu wykrywającego rituximab, umożliwiającego optymalizację leczenia rituximabem pacjentów z chłoniakami nieziarniczymi”.

Po ukończeniu studiów magisterskich odbyła staż naukowy w Pracowni Neurobiologii Molekularnej w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk. 1 października 2020 mgr Kinga Jaskuła rozpoczęła studia trzeciego stopnia w Szkole Doktorskiej Nauk o Zwierzętach i Bezpieczeństwie Żywności w Instytucie Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk, gdzie uczestniczyła w badaniach prowadzonych w ramach grantu Sonata 15, finansowanego

przez Narodowe Centrum Nauki. Mgr Kinga Jaskuła wykazuje dużą aktywność naukową i jest już współautorem 8 publikacji naukowych, o sumarycznym IF wynoszącym 40,9, którym MNiSW przyznało punkty w łącznym wymiarze 1060. Indeks Hirscha doktorantki wynosi 4, a łączna liczba cytowań 51 (Według Web of Science stan na 22.01.2026 - 9 publikacji naukowych, liczba cytowani 37, H-indeks 3). Doktorantka ma już więc pewne doświadczenia naukowe, a przedstawiona do oceny rozprawa nie jest jej pierwszym dziełem.

Ocena rozprawy doktorskiej

Mgr Kinga Jaskuła ubiega się o stopień naukowy doktora nauk w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Jako podstawę w postępowaniu doktorskim przedstawiła pracę pt. "The effect of opioid receptors blockade on atherosclerosis-related processes in ApoE-deficient mice", wykonaną w Zakładzie Genomiki Eksperymentalnej Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk, pod kierunkiem prof. dr hab. Mariusza Sacharczuka oraz dr Dominika Skiby. Przedstawiona do oceny rozprawa stanowi cykl 3, już opublikowanych prac naukowych:

1. **Jaskuła K**, Nawrocka A, Poznański P, Stachowicz A, Łazarczyk M, Sacharczuk M, Skiba DS. Opioid System Antagonism Alters Vascular Proteome and Collagen Deposition in ApoE^{-/-} Mice. *Cells*. 2025; 14(19):1559. <https://doi.org/10.3390/cells14191559> (140 pkt. MNiSW; IF=5,2).
2. **Jaskuła K**, Nawrocka A, Poznański P, Stachowicz A, Łazarczyk M, Sacharczuk M, Gaciong Z, Skiba DS. Targeting the Opioid System in Cardiovascular Disease: Liver Proteomic and Lipid Profile Effects of Naloxone in Atherosclerosis. *Biomedicines*. 2025; 13(8):1802. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13081802> (100 pkt. MNiSW; IF=3,9).
3. **Jaskuła K**, Sacharczuk M, Gaciong Z, Skiba DS. Cardiovascular Effects Mediated by HMMR and CD44. *Mediators Inflamm*. 2021; 2021:4977209. <https://doi.org/10.1155/2021/4977209> (100 pkt. MNiSW; IF=4,5).

Dwie spośród tych prac to oryginalne prace twórcze (pozycja 1 i 2), a trzecia jest opracowaniem typu Review Article (pozycja 3). Wszystkie prace, wskazane jako podstawa

rozprawy, opublikowane zostały w czasopismach indeksowanych w bazie *Journal Citation Reports* i mających wyliczony współczynnik wpływu *impact factor*. Łączny *impact factor* prac stanowiących rozprawę wynosi 13,6, a łączna liczba punktów za publikacje wchodzące w skład rozprawy według wykazu czasopism naukowych MNiSW wynosi 340. Wysokie wskaźniki *impact factor* oraz duża wartość punktowa czasopism, w których opublikowane zostały prace, stanowiące podstawę rozprawy, świadczy o ich wysokiej wartości naukowej. We wszystkich 3 pracach mgr Kinga Jaskuła jest pierwszym autorem, a jej wkład w powstanie tych dzieł szacowany jest na 51-65%. Dobitnie potwierdza to dominujący udział doktorantki w przygotowaniu tych opracowań i świadczy o jej umiejętnościach publikowania w wymagających czasopismach naukowych.

Przedstawiona do oceny rozprawa stanowi syntezę badań zmierzających do oszacowania wpływu zablokowania receptorów opioidowych na procesy związane z miażdżycą u myszy z wyłączonym genem ApoE. Praca jest próbą poszukiwania możliwości wykorzystania blokowania receptorów opioidowych jako narzędzia walki z miażdżycą, przewlekłą, postępującą chorobą, powodującą zmiany zapalne ścian tętnic, powodowaną głównie akumulacją lipidów i zaburzeniami regulacji odpowiedzi immunologicznej, która stanowi główną przyczynę chorób układu krążenia. Miażdżycą jest groźną chorobą, występującą u zwierząt i u ludzi. Z tego względu temat rozprawy uznaje za ważny, a uzyskanie wyniki mogą mieć duże znaczenie użytkowe.

Jest to dzieło, zredagowane na 45 stronach, zawierające 2 tabele i 2 rysunki. Opracowanie uzupełniają informacje o współautorach publikacji, stanowiących podstawę rozprawy i o ich udziale w powstaniu tych publikacji oraz załączone skany tych publikacji, co łącznie stanowi 120 stron tekstu. Elementami zasadniczej części rozprawy są rozdziały: Introduction, Hypothesis, Objectives, Materials and methods, Results and discussion, Conclusions i Bibliography (zawiera wykaz źródeł wykorzystanych w pracy). Do rozprawy dołączono streszczenia w językach polskim i angielskim. Układ i struktura rozdziałów, ich kolejność i formy nie budzą zastrzeżeń. Są one typowe dla rozpraw naukowych i adekwatne do tematyki oraz charakteru ocenianej rozprawy.

Pracę rozpoczyna obszerny wstęp (introduction), zawierający wprowadzenie w problematykę rozprawy i stanowiący rodzaj przeglądu piśmiennictwa. Wprowadzenie powiązane jest z tematyką rozprawy i zawiera uzasadnienie celowości podjęcia takiej tematyki. Jest ono logicznie zredagowane, z zachowaniem zasady „od ogółu do szczegółu”.

W tej części pracy autorka opisuje problematykę związaną z miażdżycą, przewlekłą, postępującą chorobą zapalną ścian tętnic. Zawarto w niej analizę piśmiennictwa, blisko związanego tematycznie z problematyką rozprawy. Zaprojektowano ją logicznie, przejrzystie i zwięźle co do formy oraz treści i nie zawiera ona fragmentów zbędnych.

W rozprawie wykorzystano łącznie 124 pozycje piśmiennictwa, z których znakomitą większość stanowią oryginalne prace naukowe, opublikowane w języku angielskim, w czasopismach o zasięgu światowym. Piśmiennictwo zostało dobrze dobrane i prawidłowo wykorzystane w rozprawie, w rozdziałach Introduction oraz Results and discussion. Autorka umiejętnie posługuje się informacjami zaczerpniętymi z piśmiennictwa, opisując stan badań, przytaczając poglądy i podając ważniejsze wyniki. Mgr Kinga Jaskuła wykazuje tym samym wiedzę z obszaru zagadnień ściśle związanych z przedmiotem rozprawy i dokumentuje, że spełnia jeden z podstawowych warunków stawianych kandydatom do uzyskania stopnia doktora, który mówi że rozprawa doktorska powinna „wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną kandydata (doktoranta) w danej dyscyplinie naukowej” (art. 13.1 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym...).

Autorka rozprawy postawiła 4 cele badawcze:

1. Zbadanie wpływu blokady receptorów opioidowych na profil lipidowy u myszy z zaawansowaną miażdżycą.
2. Zbadanie, czy układ opioidowy bierze udział w przebudowie naczyń, która zachodzi podczas rozwoju miażdżycy.
3. Zbadanie, czy blokowanie układu opioidowego w modelu zaawansowanej miażdżycy wpływa na zmiany proteomiczne w aortalii i wątrobie.
4. Zbadanie ekspresji genu Hmnr na różnych etapach rozwoju miażdżycy, a także po zablokowaniu receptorów opioidowych

Stwierdzam, że cele badawcze zostały jasno sformułowane i stanowią spójną całość.

Autorka rozprawy sformułowała 4 hipotezy badawcze. Postanowiła sprawdzić czy:

1. Blokada układu opioidowego wpływa na profil lipidowy myszy z zaawansowaną miażdżycą.
2. Hamowanie układu opioidowego moduluje przebudowę naczyń w aortalii myszy z wyłączonym genem ApoE.
3. Blokada układu opioidowego w modelu zaawansowanej miażdżycy zmienia proteom aorty i wątroby u myszy z wyłączonym genem ApoE.

4. Blokada układu opiodowego zmienia ekspresję genu *Hmmr* zarówno we wczesnym, jak i zaawansowanym stadium miażdżycy u myszy z wyłączonym genem *ApoE*.

Hipotezy są jednoznacznie sformułowane, a ich weryfikacja stwarza możliwość osiągnięcia postawionych celów badawczych

W rozdziale *Materials and methods* mgr Kinga Jaskuła opisała materiał, układ doświadczenia i stosowane narzędzia badawcze. Badania zmierzające do weryfikacji sformułowanych hipotez autorka przeprowadziła na 8- i 36-tygodniowych samcach myszy B6.129P2-Apoetm1Unc/J (szczep nr 002052) na tle C57BL/6J (*ApoE*^{-/-}). Zróżnicowany wiek zwierząt umożliwiał porównanie zmian związanych z rozwojem oraz progresją miażdżycy u myszy w wieku 8 i 36 tygodni, które, mogły reprezentować wczesne i zaawansowane stadium miażdżycy. Zwierzęta utrzymywano w grupach po 4–5 osobników w zwierzętarni Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk, w standardowych warunkach środowiskowych. Jako czynnik różnicujący autorka stosowała antagonistę układu opiodowego, chlorowoderek naloksonu (NLX) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) rozpuszczony w soli fizjologicznej, który podawany był zwierzętom z grupy doświadczalnej codziennie, dootrzewnowo, przez 7 kolejnych dni.. Mysiom z grupy kontrolnej podawano w tym czasie równoważną objętość soli fizjologicznej. Układ doświadczenia jest więc jednoczynnikowy, prosty i przejrzysty.

W badaniach zastosowano zaawansowane narzędzia badawcze. W pomiarach ekspresji mRNA wykorzystano spektrofotometr NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), za pomocą którego oceniano stężenie i czystość RNA. Całkowity RNA izolowano z płatów wątroby i aort za pomocą odczynnika TRIidty G (PanReac AppliChem, Darmstadt, Niemcy). Odwrotną transkrypcję RNA przeprowadzono za pomocą zestawu High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Ekspresję genów *Hmmr*, *Col1a1* i *Col3a1* na poziomie mRNA w aortach 8-tygodniowych i 36-tygodniowych myszy oraz ekspresję *Lpl*, *Srebf1* i *Fabp4* na poziomie mRNA w wątrobie 36-tygodniowych myszy analizowano przy użyciu sond TaqMan® oraz mieszaniny TaqMan® Real-Time PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Reakcje przeprowadzono na płytkach 96-dołkowych w systemie LightCycler 96 (Roche Diagnostics, Niemcy) zgodnie ze standardowym protokołem PCR w czasie rzeczywistym. Przeprowadzono także ocenę zmian w prawym

płacie wątroby i w aorcie piersiowej badaniami histologicznymi, określając całkowity obszar zmian włókien barwionych barwieniem trójbarwnym, za pomocą zestawu Trichrome Stain (Masson) Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). W badaniach wykorzystano również inne zaawansowane techniki badawcze takie jak: cytometria przepływowa, z zastosowaniem cytometru przepływowego CytoFLEX (Beckman Coulter, Brea, Kalifornia, USA); analiza profilu lipidowego w próbkach krwi pobranych bezpośrednio z serca znieczulonych myszy, za pomocą analizatora COBAS 6000 (Roche Diagnostics, Niemcy); analizy metodą chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) i wiele innych. Stosowane metody badawcze zostały szczegółowo opisane w rozdziale Materials and Methods. Z opisu wynika duże zaawansowanie doktorantki w stosowaniu nowoczesnych technik badawczych i zaawansowanej aparatury naukowej. Wybór narzędzi badawczych uważam za trafny oraz adekwatny do celu pracy i postawionej hipotezy.

Do statystycznej interpretacji wyników autorka wykorzystała standardowe metody analizy statystycznej. Do określenia różnic między grupami zastosowała analizę ANOVA (co w układzie jednoczynnikowym jest możliwe), przy poziomie istotności $p < 0,05$. Dane z analizy surowicy i oceny histopatologicznej oraz dane uzyskane z badań aorty sprawdzono pod kątem zgodności z rozkładem normalnym za pomocą testu Shapiro-Wilka. Zastosowane narzędzia statystyczne uznaję za prawidłowe i adekwatne do założeń pracy oraz przyjętego układu doświadczalnego. Pewną słabość stanowi brak informacji o liczebności próby. Zarówno w rozprawie jak i w publikacjach, które stanowią jej podstawę nie podano informacji o liczbie myszy, na których prowadzono eksperymenty. Liczebność próby (obok zmienności osobniczej) jest podstawowym czynnikiem wiarygodności wyników badań.

Główną część rozprawy stanowi rozdział Results and discussion, w którym autorka opisała wyniki badań. W badaniach na myszach mgr Kindze Jaskuła udało się udowodnić wiele dotychczas nie znanych lub niewyjaśnionych zależności. Wykazała, że w obu grupach wiekowych myszy podawanie NLX prowadzi do obniżenia ekspresji genu *Hmnr*, co skutkuje zmianami w aorcie i wskazuje na jego potencjalną rolę w przebudowie naczyń. NLX moduluje także ekspresję kolagenu w sposób zależny od stadium choroby (ekspresja *Col3a1* uległa obniżeniu u młodych myszy, natomiast wzrosła u starszych). Na podstawie analizy subpopulacji limfocytów T w śledzienie autorka wykazała, że NLX nie wpływa

istotnie na proporcje komórek CD4⁺ i CD8⁺, jednak znacząco zmienia ekspresję białka Hmnr w wybranych subpopulacjach limfocytów T. Wykazała też, że NLX powoduje wzrost poziomu frakcji HDL w osoczu, bez istotnych zmian stężenia cholesterolu całkowitego, LDL i trójglicerydów. W badaniach proteomicznych aorty i wątroby wykazała, że zastosowanie NLX indukuje zmiany w poziomie białek zaangażowanych w metabolizm lipidów i procesy zapalne. Rozdział Results and discussion dokumentuje bardzo dobre opanowanie warsztatu badawczego przez doktorantkę. Uzyskane wyniki przedstawiane są rzetelnie i w zgodności ze stanem faktycznym oraz szeroko dyskutowane, z wykorzystaniem dobrze dobranego i prawidłowo cytowanego piśmiennictwa naukowego. Podsumowując część wynikową uważam, że Autorka zrealizowała założenia wynikające z tytułu rozprawy i zdefiniowanych celów. Wykazała się przy tym umiejętnością stosowania zaawansowanych technik i narzędzi badawczych.

Całość kończy podsumowanie (Conclusion), wyodrębnione jako osobny rozdział. Wnioski z pracy autorka sformułowała w 3 obszernych punktach. Formułując uogólnienia autorka rozprawy trzyma się faktów, a przedstawione uogólnienia mają uzasadnienie w materiale empirycznym. Za najistotniejsze osiągnięcie rozprawy uważam wykazanie możliwości blokowania receptorów opioidowych za pomocą chlorowodoru naloksonu (NLX), co powoduje przebudowę naczyń, regulację odpowiedzi immunologicznej i metabolizm lipidów.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie konkretnego problemu naukowego, a jej autorka wykazała duże umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa spełnia więc warunki stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora, wynikające z art. 13.1 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym. „, który mówi że rozprawa doktorska powinna „*stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.....*”, a kandydat do stopnia naukowego doktora nauk powinien wykazywać „*umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej...*”. **Przedstawiona do oceny rozprawa merytorycznie mieści się w obszarze dziedziny nauk: nauki rolnicze, w dyscyplinie zootechnika i rybactwo i w tym zakresie dokumentuje ona kompetencje naukowe kandydatki. Uwzględniając wartości poznawcze i użyteczne przedstawionej do oceny rozprawy oraz wynikające z niej udokumentowanie wiedzy i opanowania warsztatu naukowego przez doktorantkę stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca pt. „The effect of opioid receptors**

blockade on atherosclerosis-related processes in ApoE-deficient mice” odpowiada warunkom określonym dla rozpraw doktorskich w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki dnia z 14 marca 2003 roku, a jej autorka mgr Kinga Jaskuła wykazała wymagane Ustawą umiejętności. W związku z tym przedstawiam Radzie Naukowej Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu wniosek o dopuszczenie rozprawy Pani mgr Kingi Jaskuła do publicznej obrony. Jednocześnie z uwagi na naukowe znaczenie wyników pracy, zastosowanie zaawansowanych technik badawczych, wymagających dużych umiejętności i solidnego warsztatu naukowego oraz wykazane w pracy umiejętności przejrzystego przedstawiania trudnych kwestii stawiam wniosek o wyróżnienie ocenianej rozprawy.

Stanisław Kondracik