

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Marzeny Rugieł zatytułowanej „Zastosowanie nowoczesnych metod spektroskopowych do oceny wpływu diety ketogenicznej stosowanej w okresie ciąży na rozwój układu nerwowego potomstwa”.

Niniejszą recenzję sporządziłem w związku z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki fizyczne nr RD-NF.510.12.2026 z dnia 25.05.2026 wyznaczającą mnie na recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora Pani Marzenie Rugieł w rozprawie doktorskiej na temat: „Zastosowanie nowoczesnych metod spektroskopowych do oceny wpływu diety ketogenicznej stosowanej w okresie ciąży na rozwój układu nerwowego potomstwa”, w dyscyplinie: Nauki fizyczne. Przekazana mi do recenzji praca została wykonana na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo – Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie. Doktorantka wykonała ją pod opieką promotora – Pani prof. AGH dr hab. inż. Joanny Chwiej.

Rozprawę doktorską Pani mgr Marzeny Rugieł stanowi cykl trzech publikacji opublikowanych w czasopismach posiadających Impact Factor i znajdujących się w wykazie czasopism Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, co oznacza, że przeszedł rygorystyczny proces recenzji eksperckiej. Co prawda doktorantka informuje, że jedna z trzech publikacji oznaczona jako M1 znajduje się w recenzji w czasopiśmie ACS Chemical Neuroscience. Jednak w chwili pisania recenzji ww. praca została opublikowana i można ją znaleźć na stronie czasopisma: <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.6c00111>. Udział doktorantki w każdej z prac został potwierdzony w oświadczeniach współautorów. Doktorantka uczestniczyła w opracowaniu koncepcji badań, przeprowadzała część eksperymentalną, analizowała i interpretowała wyniki badań i opracowywała tekst publikacji. Doktorantka jest pierwszym autorem publikacji objętych rozprawą doktorską, co potwierdza jej wiodącą rolę w opracowaniu koncepcji badań, realizacji eksperymentów oraz opracowaniu wyników.

U podstaw badań objętych rozprawą doktorską leżą poszukiwania skutecznej metody leczenia padaczki u kobiet ciężarnych, wolnej od stosowania leków przeciwpadaczkowych, z których większość może negatywnie wpływać na rozwój układu nerwowego płodu. Jedną z proponowanych terapii jest wykorzystanie diety ketogenicznej, która wykazuje wysoką skuteczność w leczeniu padaczki lekoopornej u dzieci i dorosłych. W badaniach wykorzystano mikrospektroskopię w podczerwieni z transformatą Fouriera i mikroskopię Ramana oraz mikroskopię fluorescencji rentgenowskiej ze wzbudzeniem synchrotronowym.

Zasadniczym celem badań objętych rozprawą doktorską była ocena wpływu diety ketogenicznej stosowanej w okresie ciąży na rozwój układu nerwowego potomstwa. W ramach ww. głównego celu doktorantka wyróżniła pięć celów szczegółowych. Pierwszym z nich była optymalizacja warunków pomiarowych oraz identyfikacja czynników mogących wpływać na jakość wyników uzyskanych przy zastosowaniu wybranych ww. technik spektroskopowych. Drugi polegał na określeniu zmian w przestrzennym rozmieszczeniu makromolekuł biologicznych w wybranych obszarach mózgu szczurów. Trzecim celem była analiza zmian w przestrzennym rozmieszczeniu i zawartości wybranych pierwiastków w mózgu szczurów w następstwie ekspozycji na dietę ketogeniczną. Czwarty cel szczegółowy obejmował ocenę wpływu diety ketogenicznej na rozwój układu nerwowego potomstwa, w zależności od etapu rozwoju postnatalnego. W ramach piątego celu szczegółowego oceniono wpływ prenatalnej ekspozycji na dietę ketogeniczną, na rozwój układu nerwowego potomstwa, w zależności od płci.

Charakterystyka badań

Pierwsza publikacja wchodząca w skład rozprawy doktorskiej (oznaczona symbolem A1), zatytułowana „Does Ketogenic Diet Used in Pregnancy Affect the Nervous System Development in Offspring? FTIR Microspectroscopy Study”, ukazała się w 2023 roku w czasopiśmie ACS Chemical Neuroscience. W pracy tej podjęto próbę określenia potencjalnych nieprawidłowości w składzie biomolekularnym mózgu, które mogą wystąpić u potomstwa po prenatalnej ekspozycji na dietę ketogeniczną. W tym celu samice szczurów szczepu Wistar w okresie ciąży karmiono dietą ketogeniczną lub standardową laboratoryjną, a do dalszych badań wykorzystano ich męskie potomstwo w wieku 2, 6 oraz 14 dni. Do analizy topograficznej i ilościowej głównych makromolekuł biologicznych (białek, lipidów, związków zawierających grupy fosforanowe i karbonylowe oraz cholesterolu) w próbkach mózgu zastosowano mikrospektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera. Przeprowadzone mapowanie chemiczne oraz dalsze analizy półilościowe i statystyczne wykazały, że stosowanie diety ketogenicznej w czasie ciąży ogólnie nie prowadzi do istotnych anomalii biochemicznych w mózgach szczurów w wieku 2 i 6 dni. Wyjątkiem od tej reguły była zwiększona względna zawartość (w odniesieniu do białek) związków zawierających grupy fosforanowe w istocie białej i korze mózgowej szczurów dwudniowych narażonych prenatalnie na tę dietę. Większą liczbę nieprawidłowości stwierdzono w mózgach potomstwa w wieku 14 dni, którego matki karmiono dietą ketogeniczną. Obejmowały one wzrost względnego poziomu związków zawierających grupy karbonylowe (zarówno w korze, jak i w komórkach wielokształtnych oraz warstwie molekularnej formacji hipokampa), a także spadek względnej zawartości lipidów i ich zmiany strukturalne w istocie białej. Ponadto powierzchnia torebki wewnętrznej (struktury istoty białej) wyznaczona dla tej grupy wiekowej była mniejsza u zwierząt poddanych prenatalnej ekspozycji na dietę ketogeniczną. Zaobserwowane zmiany wydają się wynikać z podwyższonej ekspozycji płodu na ciała ketonowe oraz z zaburzeń metabolizmu lipidów. Mogą one być również powiązane z procesami kompensacyjnymi organizmu matki, który w okresie poporodowym stopniowo nadrabia niedobory węglowodanów.

Druga publikacja (oznaczona symbolem A2), zatytułowana „Element Changes Occurring in Brain Point at the White Matter Abnormalities in Rats Exposed to the Ketogenic Diet During Prenatal Life”, ukazała się w czasopiśmie ACS Chemical Neuroscience w 2024 roku. W pracy tej wykorzystano mikroskopię fluorescencji rentgenowskiej wzbudzanej promieniowaniem synchrotronowym (SR- i oznaczono takie pierwiastki jak fosfor, siarka, potas, wapń, żelazo i cynk. Ponadto, aby zweryfikować, czy ewentualne skutki stosowania diety ketogennej mają charakter tymczasowy, czy długoterminowy, w eksperymencie uwzględniono różne etapy rozwoju postnatalnego zwierząt. Uzyskane wyniki potwierdziły dużą przydatność mikroskopii SR-XRF do śledzenia zmian pierwiastkowych zachodzących w mózgu podczas rozwoju postnatalnego, jak również tych wywołanych prenatalną ekspozycją na dietę wysokotłuszczową. Analiza topograficzna mózgów pobranych od potomstwa matek karmionych dietą ketogeniczną w czasie ciąży oraz odpowiednich osobników kontrolnych wykazała potencjalny wpływ takiego sposobu żywienia na poziom pierwiastków w mózgu, takich jak fosfor i siarka. U najstarszego potomstwa zauważono istotne zmniejszenie powierzchni obszarów mózgu charakteryzujących się podwyższoną zawartością tych pierwiastków, które pod względem histologicznym i morfologicznym odpowiadają strukturom istoty białej. Z kolei ilościowa analiza pierwiastkowa wykazała istotnie obniżony poziom żelaza w prążkowie i istocie białej 30-dniowych szczurów narażonych prenatalnie na działanie diety ketogennej. Efekt ten miał charakter tymczasowy i nie zaobserwowano go u dorosłych zwierząt. Zaobserwowane nieprawidłowości mogą być powiązane ze zmianami w akumulacji sfingomieliny i sulfatydów oraz świadczyć o zaburzeniach struktury i integralności mieliny występującej w istocie białej.

Trzecia publikacja wchodząca w skład rozprawy doktorskiej (oznaczona symbolem M1) nosi tytuł: „Fourier Transform Infrared Imaging Supported by Raman Spectroscopy Reveals Biochemical Changes in Adult Rat Brains Following Prenatal Exposure to a Ketogenic Diet”. Artykuł ten został opublikowany w 2026 roku w czasopiśmie ACS Chemical Neuroscience. Dzięki połączeniu uzupełniających się zalet mikrospektroskopii FTIR i ramanowskiej, niniejsza praca umożliwiła wykrycie subtelnych zmian biochemicznych w tkance mózgowej szczurów karmionych prenatalnie dietą ketogenną. Analizy spektroskopowe wykazały zmiany zależne od regionu mózgu i płci, obejmujące przede wszystkim metabolizm lipidów oraz związków zawierających grupy fosforanowe, które są kluczowymi składnikami mieliny i błon komórkowych. Większość zmian zaobserwowano u 60-dniowych samców poddanych prenatalnej ekspozycji na dietę ketogenną. W regionach hipokampa i kory mózgowej wykryto inkluzje bogate w kreatynę i cholesterol, co może odzwierciedlać nieprzystosowawcze skutki zmienionego metabolizmu energetycznego i/lub mechanizmy neuroadaptacyjne związane z predykcją metaboliczną. Ponadto badane samce szczurów wykazywały obniżenie wartości wielu parametrów FTIRM powiązanych z lipidami, co potencjalnie odzwierciedla zaburzenia w funkcjonowaniu oligodendrocytów lub w dynamice mielinizacji. Podczas gdy 30-dniowe samice z grupy doświadczalnej wykazywały specyficzne dla regionów mózgu spadki zawartości lipidów oraz podwyższone wskaźniki związane z fosforanami. Zmiany te uległy w dużej mierze normalizacji do 60. dnia życia, co wskazuje na stabilizację rozwojową efektów metabolicznych po prenatalnej ekspozycji na dietę ketogenną. W przeciwieństwie do samców, u samic nie zaobserwowano inkluzji kreatynowych ani cholesterolowych, co prawdopodobnie odzwierciedla modulację zależną od płci. Estrogeny regulują metabolizm kreatyny, wspierają funkcje mitochondrialne i antyoksydacyjne oraz modulują homeostazę lipidową, zapewniając neuroprotekcję i łagodząc zaburzenia metaboliczne.

Ocena merytoryczna

Praca dotyczy kluczowego problemu medycznego – poszukiwania bezpiecznych alternatyw dla leków przeciwpadaczkowych u kobiet w ciąży oraz kompleksowego zrozumienia wpływu diety ketogenicznej na rozwój płodu i potomstwa. Rozprawa doktorska Pani mgr Marzeny Rugieł reprezentuje wysoki poziom naukowy i wpisuje się w aktualne trendy badawcze na styku fizyki, biochemii oraz medycyny. Doktorantka z powodzeniem połączyła zaawansowane metody badań: mikrospektroskopię w podczerwieni z transformatą Fouriera, mikroskopię Ramana, oraz mikroskopię fluorescencji rentgenowskiej ze wzbudzeniem synchrotronowym. Taka kombinacja pozwoliła na precyzyjną ocenę topograficzną i ilościową makrocząsteczek biologicznych oraz określenie rozkładu pierwiastków w ośrodkowym układzie nerwowym. Badania uwzględniły szeroki wachlarz etapów rozwoju postnatalnego (od 2. do 60. dnia życia) oraz zróżnicowanie pod kątem płci, co pozwoliło wykryć subtelne, długofalowe oraz specyficzne dla płci mechanizmy neuroadaptacyjne i neuroprotektoryjne (m.in. określono rolę estrogenów). Praca wpisuje się w nurt badań translacyjnych, łącząc nauki fizyczne z biomedycznymi. Oryginalność polega na kompleksowej ocenie wpływu diety ketogenicznej (stosowanej jako alternatywa dla leków przeciwpadaczkowych) w okresie prenatalnym na rozwój ośrodkowego układu nerwowego potomstwa, z uwzględnieniem szerokiego spektrum wiekowego (od 2. do 60. dnia życia) oraz kryterium płci.

Uwagi

W pierwszych dniach życia (2. i 6. dzień) zmiany biochemiczne u potomstwa były stosunkowo niewielkie (poza podwyższoną zawartością związków fosforanowych), natomiast wyraźniejszą liczbę nieprawidłowości (np. spadek lipidów, zmiany w grupach karbonylowych, mniejsza powierzchnia torebki wewnętrznej) zaobserwowano u 14-dniowych szczurów. Z kolei u starszych osobników część zmian ulegała normalizacji, ale pojawiały się inne specyficzne markery (np. inkluzje kreatynowo-cholesterolowe u 60-dniowych samców). Jak dokładnie odróżnić przejściowe efekty opóźnienia

rozwojowego od trwałych deficytów neurologicznych wynikających z prenatalnej ekspozycji na dietę ketogeniczną? Czy zaobserwowane zmiany uwidoczniły się u wszystkich badanych osobników w tych samych ramach czasowych?

W odniesieniu do publikacji A1 autorka sugeruje, że część zaobserwowanych zmian u potomstwa może wynikać z procesów kompensacyjnych organizmu matki nadrabiającej niedobory węglowodanów w okresie poporodowym. W jaki sposób w zaplanowanym modelu badawczym można precyzyjnie oddzielić bezpośredni wpływ ciał ketonowych na płód od wtórnych efektów zaburzeń metabolicznych u matki?

Trzecia publikacja (M1) wykazała wyraźne różnice w reakcji na dietę pomiędzy samcami a samicami (m.in. obecność inkluzji bogatych w kreatynę i cholesterol u 60-dniowych samców oraz ich brak u samic, co powiązano z ochronnym działaniem estrogenów). Czy zaobserwowane różnice wynikają wyłącznie z modulacji hormonalnej (estrogenów), czy w grę wchodzi również inne mechanizmy epigenetyczne specyficzne dla chromosomów płciowych?

Wszystkie eksperymenty opisane w rozprawie doktorskiej zostały przeprowadzone na zwierzętach. Niestety, w żadnym z trzech artykułów objętych rozprawą doktorską nie zamieszczono wyczerpującej dyskusji dotyczącej ekstrapolacji uzyskanych wyników na organizm człowieka. Moje zastrzeżenie odnosi się do specyfiki procesów biochemicznych zachodzących w mózgu. Należy podkreślić, że mózg szczura wykazuje istotne różnice względem ludzkiego — nie tylko w aspekcie makroskopowym (rozmiar i neuroanatomia), ale przede wszystkim w zakresie neurochemii oraz dynamiki zachodzących reakcji metabolicznych.

Dieta ketogeniczna jest wysoce skuteczna w terapii padaczki, jednak badania na modelu zwierzęcym wskazują na ryzyko wystąpienia subtelnych anomalii biomolekularnych w obrębie mieliny i istoty białej mózgu potomstwa. Na ile uzyskane wyniki mogą stanowić bezpośrednie przeciwwskazanie lub wytyczną ostrożnościową do stosowania restrykcyjnej diety ketogenicznej u kobiet w ciąży cierpiących na padaczkę lekooporną w praktyce klinicznej?

Wnioski końcowe i rekomendacja

Podsumowując, stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 18 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” z późniejszymi zmianami. **Wniosuję o dopuszczenie rozprawy doktorskiej Pani mgr Marzeny Rugieł do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki fizyczne.**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska stanowi spójne i wartościowe studium badawcze o dużym znaczeniu praktycznym, wpisujące się w nurt nowoczesnej fizyki medycznej. Wybór formy rozprawy w postaci cyklu publikacji w renomowanych czasopismach posiadających Impact Factor świadczy o wysokiej jakości uzyskanych wyników oraz ich uznaniu przez międzynarodowe środowisko naukowe. W związku z powyższym **wniosuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Marzeny Rugieł.**



PODPIS ZAUFANY

ADAM MARCIN
KONEFAŁ

02.08.2026 05:25:28 GMT+0200

Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

Adam Konefał