

Kraków, 08.07.2026r.

Dr n. fiz. hab. n. med. inż. Kamil Kisielewicz, prof. NIO-PIB

Zakład Fizyki Medycznej

Narodowy Instytut Onkologii

im. Marii Skłodowskiej – Curie,

Państwowy Instytut Badawczy.

Oddział w Krakowie

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marzeny Rugiel
zatytułowanej:**

**„Zastosowanie nowoczesnych metod spektroskopowych do oceny wpływu
diety ketogenicznej stosowanej w okresie ciąży na rozwój układu
nerwowego potomstwa”**

Dysertacja doktorska Pani mgr inż. Marzeny Rugiel została przygotowana pod opieką naukową Pani dr hab. inż. Joanny Chwiej, prof. AGH oraz Pani prof. dr hab. Zuzanny Setkowicz – Janeczko. Projekt doktorski został zrealizowany na Akademii Górniczo – Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie, na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej, w Katedrze Fizyki Medycznej i Biofizyki.

Na rozprawę doktorską składają się dwa wieloautorskie artykuły naukowe opublikowane w prestiżowym czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym ACS Chemical Neuroscience (IF:4,5; 100 punktów MNiSW) :

1. Marzena Rugiel, Zuzanna Setkowicz – Janeczko, Wojciech Kosiek, Zuzanna Rauk, Kamil Kawon, Joanna Chwiej, Does Ketogenic Diet Used in Pregnancy Affect the Nervous System Development in offspring? – FTIR Microspectroscopy Study, ASC Chem Neuroscience 14 (2023) 2775-2791.

2. Marzena Rugieł, Zuzanna Setkowicz, Mateusz Czyżycki, Rolf Simon, Tilo Baumbach, Joanna Chwiej, Element Changes Occurring in Brain Point at the White Matter Abnormalities in Rats Exposed to the Ketogenic Diet During Prenatal Life, ASC Chem Neuroscience 15 (2024) 3932-3944.

Dodatkowo jeden manuskrypt (M1) pt. "Fourier Transform Infrared Imaging Supported by Raman Spectroscopy Reveals Biochemical Changes in Adult Rat Brains Following Prenatal Exposure to a Ketogenic Diet", autorstwa: Marzena Rugieł, Zuzanna Setkowicz, Agnieszka Drozd, Aleksandra Wilk, Zofia Bryłowska, Joanna Chwiej, znajduje się w trakcie recenzji, także w czasopiśmie ASC Chemical Neuroscience.

We wszystkich trzech wskazanych pracach doktorantka jest głównym autorem. W przedstawionej mi do oceny dokumentacji doktorantki, znajdują się oświadczenia współautorów ww. publikacji, wskazujące możliwą do wyodrębnienia część i indywidualny wkład doktorantki oraz zgody na przedłożenie ww. prac przez Panią Marzenę Rugieł jako części rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Głównym celem pracy wskazanym przez doktorantkę jest ocena wpływu diety ketogenicznej, stosowanej w okresie ciąży, na rozwój układu nerwowego potomstwa zwierząt, których matki w czasie ciąży były karmione wskazaną dietą (KD), w porównaniu z potomstwem pochodzącym z grupy kontrolnej, odżywianych standardowo. Odżywianie matki w okresie ciąży ma istotny wpływ na rozwój oraz zdrowie płodu, zarówno po urodzeniu, jak i w wieku dorosłym, dlatego kluczowe jest określenie bezpieczeństwa stosowania różnych modeli żywieniowych w czasie ciąży, na odpowiednim modelu zwierzęcym.

Podjęta tematyka jest bardzo ważna w kontekście leczenia kobiet cierpiących na padaczkę w okresie ciąży, gdyż większość dostępnych na rynku leków przeciwpadaczkowych, ma negatywny wpływ na rozwój układu nerwowego potomstwa, obejmujących anomalie anatomiczne i behawioralne.

Zakres rozprawy doktorskiej obejmuje:

- sformułowanie hipotezy badawczej i analizę dostępnej literatury,
- opracowanie planu badawczego i przeprowadzenie eksperymentu na zwierzętach.

- zapoznanie się z metodami preparatyki próbek zwierzęcych oraz przygotowanie preparatów do badań spektroskopowych,
- opanowanie technik pracy z używanymi mikroskopami: podczerwieni (FTIR) i ramanowskim (RM), wraz z oprogramowaniem do analizy danych,
- wykonanie właściwych pomiarów przy użyciu powyższych technik mikroskopowych,
- analiza rozmieszczenia głównych makromolekul biologicznych w tkance mózgowej metodami FTIR i RM,
- analiza rozkładu pierwiastków w mózgu szczurów metodą micro-SR-XRF,
- finalne porównanie wpływu działania diety ketogenicznej na układ nerwowy potomstwa w zależności od jego rozwoju postnatalnego i płci.

Hodowlę zwierząt (szczurów) oraz wszystkie związane z nią procedury przeprowadzono w Pracowni Neuropatologii Doświadczalnej Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego. Na przeprowadzenie badań, wydano odpowiednia zgodę Pierwszej Lokalnej Komisji Etycznej nr 122/2015.

W pracy nr 1 Doktorantka wykorzystała technologie FTIRM do uzyskania specjalnych map chemicznych badanych tkanek, umożliwiających identyfikację różnic biomolekularnych między grupą kontrolną a eksperymentalnymi. Dotyczyło to samców w 2, 6 i 14 dniu życia. Zastosowanie tej techniki pozwoliło na wykazanie zwiększonej względnej intensywności pasma 1740 cm^{-1} , charakterystycznego dla grup karbonylowych w korze mózgowej oraz wybranych rejonach hipokampa u 14 dniowych samców eksponowanych prenatalnie na KD. W powyższej grupie zaobserwowano także obniżenie względnej zawartości lipidów w obszarach istoty białej oraz zmniejszenie powierzchni torebki wewnętrznej.

W pracy nr 2 za pomocą technik micro-SR-XRF, wykazano różnice w składzie oraz rozmieszczeniu pierwiastków w mózgu w grupach eksperymentalnych. Stwierdzono zmniejszenie obszarów mózgu o wysokiej zawartości fosforu oraz siarki u 30 i 60 dniowego potomstwa matek biorących udział w eksperymencie. Doktorantka zauważyła, że analizowane obszary mózgu odpowiadają istocie białej, (aksony otoczone osłonkami mielinowymi, bogatymi w lipidy).

W tej samej pracy autorka poddała analizie zmiany w zawartości i rozmieszczeniu pierwiastków, zachodzące w trakcie rozwoju postnatalnego, w zależności od podawanej prenatalnie diety. Doktorantka wskazuje, że najbardziej dynamiczne zmiany zaobserwowano w przypadku cynku. U osobników eksponowanych prenatalnie na KD, zauważono wyższą akumulację tego pierwiastka w formacji hipokampa, w pierwszych tygodniach życia. Słusznie powiązano tę obserwację z przebudową połączeń synaptycznych i reorganizacją tkanki nerwowej.

W manuskrypcie złożonym do czasopisma ASC Chemical Neuroscience, jeszcze nieopublikowanym (M1), doktorantka poddaje analizie długofalowe zmiany biochemiczne, związane z prenatalną dietą ketogeniczną, zachodzące w rozwijającym się mózgu szczura. W pracy zastosowano dwie metody mikroskopowe: FTIRM oraz RM. Najbardziej wyraźne zmiany zaobserwowano u 60 dniowych samców, u których w obrębie formacji hipokampa i kory mózgowej stwierdzono obecność wtrąceń bogatych w kreatynę i cholesterol. Stwierdzono także obniżenie parametrów związanych z lipidami. W M1 przeanalizowano także zależne od płci różnice w odpowiedzi mózgu na prenatalną KD. Zaobserwowano, że u 30 dniowych samców występują przejściowe, lokalizacyjnie specyficzne zmiany w profilu lipidowym i parametrach fosforanowych, które w większości uległy normalizacji do 60 dnia życia. Bardzo ważną obserwacją jest fakt, że w przeciwieństwie do samców nie zaobserwowano wtrąceń kreatyny, ani cholesterolu, co świadczy o neuroprotekcyjnym działaniu estrogenów.

Przedstawione w rozprawie prace, wykorzystują model zwierzęcy oparty o szczura Wistar. Brakuje tutaj chociaż krótkiego uzasadnienia, dlaczego akurat ten model zwierzęcy a nie inny został wybrany do badań. Rozumiem, że jest to model popularnie wykorzystywany w pracach dotyczących układu nerwowego oraz ogólnie pojętej neurologii, ze względu na lepszą translację wyników w stosunku do ludzi w porównaniu z modelami mysimi, ze względu na większe niż myszy rozmiary ciała i masę, ale krótka wzmianka na temat wyboru modelu, byłaby jak najbardziej pożądana.

Podsumowując, przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska podejmuje ważny temat wpływu diety ketogenicznej stosowanej w okresie ciąży, na rozwój układu nerwowego potomstwa. Praca, na którą składają się 3 artykuły (2 opublikowane i jeden złożony, w recenzji) napisana jest bardzo poprawnie i zrozumiale, a wyniki zostały zaprezentowane z dużą starannością. Doktorantka wykazała się znajomością i opanowaniem zaawansowanych metod laboratoryjnych takich jak mikrospektroskopia FTIR, mikroskopia Ramana (RM).

Topograficzna analiza pierwiastkowa została przeprowadzona techniką micro-SR-XRF, opartą o promieniowanie synchrotronowe. Kompleksowe podejście do problemu badawczego oraz zastosowanie zaawansowanych technik spektroskopowych zasługuje na uznanie. Zastosowane techniki spektroskopowe, umożliwiły szczegółową ocenę składu biochemicznego i pierwiastkowego mózgu potomstwa matek karmionych dietą ketogeniczną, wskazując na potencjalny, zależny od wieku i płci wpływ KD stosowanej w ciąży, na rozwój ośrodkowego układu nerwowego potomstwa. Chciałbym nadmienić, iż w momencie finalizacji niniejszej recenzji, manuskrypt M1, został zaakceptowany do druku i opublikowany na łamach ASC Chemical Neuroscience.

Uważam, że recenzowana rozprawa spełnia wszelkie kryteria Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018, poz. 1668 z późniejszymi zmianami), w szczególności przepisy art. 187.1 oraz 187.2 Ustawy.

Rozprawa prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w dyscyplinie nauki fizyczne (w związku z Art. 187.1 oraz zawiera oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (w związku z Art. 187.2).

Na podstawie powyższego wnoszę do Szanownej Rady Dyscypliny Nauki Fizyczne Akademii Górniczo – Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr inż. Marzeny Rugeł do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje jednocześnie o wyróżnienie recenzowanej rozprawy. Projekt został bardzo starannie zaplanowany i przeprowadzony. Doskonale opanowanie przez doktorantkę, zaawansowanych metod mikrospektroskopii FTIR, mikroskopii Ramana (RM) oraz analizy pierwiastkowej techniką micro-SR-XRF, budzi ogromne uznanie. Podjęta tematyka badań stanowi istotną wartość dodaną w klinice i ma realne znaczenie w dalszych badaniach związanych z leczeniem padaczki u ciężarnych kobiet.

08.07.2026
Kamil Kubiś