INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
Centrum Doskonałości : IMMUNE

[redacted]

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RADY DYSCYPLINY
NAUKI FARMACEUTYCZNE RAF/180/20
wpł. dnia 03-08-2026
L. dz. RN-BF/ 4100.8.2026

Dr hab. Izabela Nowak, prof. PAN
Kierownik Laboratorium Immunogenetyki
i Immunologii Tkankowej
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda
Polskiej Akademii Nauk
[redacted]

Wrocław, 02.08.2026 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgra Kamila Rodaka

"Ocena zawartości pochodnych kwasu arachidonowego oraz poziomu nasilenia stresu oksydacyjnego w plazmach nasienia mężczyzn o obniżonej płodności"

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Kratz i promotor pomocniczej dr Izabeli Kokot. Podstawę rozprawy doktorskiej stanowi cykl 3 publikacji, w tym 2 prace oryginalne i 1 artykuł przeglądowy opublikowane w latach 2023–2025 w recenzowanych czasopismach z listy JCR. Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) wyniósł 14,8, natomiast sumaryczna liczba punktów MNiSW dla publikacji z cyklu to 380. We wszystkich 3 artykułach mgr Rodak jest zarówno pierwszym, jak i korespondencyjnym współautorem, co wskazuje na dużą samodzielność Doktoranta na każdym etapie powstawania artykułów będących podstawą tej pracy doktorskiej.

Autoreferat rozpoczyna się Spisem Treści, następnie przedstawieniem cyklu publikacji stanowiących podstawę rozprawy oraz rozdziałem Wstęp. W kolejnym rozdziale Kandydat omawia wybrane, ale najważniejsze aspekty teoretyczne dotyczące niepłodności męskiej, tzn. definicję, epidemiologię i etiopatogenezę. Z kolejnego podrozdziału

dowiadujemy się o funkcji, składzie i znaczeniu plazmy nasienia. W dalszej części Autoreferatu mgr Rodak opisuje wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFAs) oraz pochodne kwasu arachidonowego w kontekście płodności męskiej. W kolejnym podrozdziale Kandydat omawia równowagę oksydacyjno-redukcyjną i jej związek z płodnością męską. W następnej części Autoreferatu znajdują się rozdziały: Cel pracy, Materiał i metody zastosowane w badaniach, Analiza statystyczna oraz Najważniejsze wyniki badań. Część merytoryczną Autoreferatu kończą rozdziały Podsumowanie i Wnioski. Praca zawiera również Streszczenie w języku polskim i angielskim, Piśmiennictwo, Źródła finansowania, Wykaz skrótów, Spis rysunków, tabel i załączników. W załącznikach Doktorant zawarł artykuły stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej, całkowity dorobek oraz oświadczenia współautorów publikacji. Oprócz rysunków i tabel zawartych w oryginalnych artykułach, Autoreferat zawiera 4 rysunki i 1 tabelę. Wykaz piśmiennictwa obejmuje 60 pozycji literatury, głównie anglojęzycznej, do roku 2025, z czego 38 pozycji pochodzi z ostatnich 10 lat.

Pod względem merytorycznym temat pracy doktorskiej jest aktualny i bardzo ważny, ponieważ dotyczy niepłodności męskiej, której wskaźniki rosną na skalę globalną. Należy podkreślić, że czynnik męski odpowiada za około 50% przypadków problemów z poczęciem dziecka u par. Dostępne, rutynowo wykonywane badanie jakości nasienia nie dostarcza wszystkich informacji o potencjale nasienia, zwłaszcza gdy mówimy o idiopatycznej niepłodności męskiej. Dlatego poszukiwanie nowych biomarkerów niepłodności męskiej o wysokiej czułości i swoistości, jak i poznanie mechanizmów prowadzących do obniżenia zdolności rozrodczej mężczyzn jest jak najbardziej uzasadnione i pożądane.

Cele pracy są jasno zdefiniowane i dotyczą:

- Optymalizacji metody ekstrakcji PUFAs z plazmy nasienia w celu analizy ich stężeń za pomocą chromatografii gazowej z tandemową spektrometrią mas (GC-MS/MS);
- Weryfikacji użyteczności oznaczeń stężeń wybranych PUFAs, pochodnych kwasu arachidonowego oraz enzymów antyoksydacyjnych w plazmie nasienia w diagnostyce niepłodności męskiej, z uwzględnieniem jej podtypów;
- Analizy korelacji badanych parametrów oraz odniesienie ich do standardowej analizy nasienia w celu pogłębienia wiedzy na temat mechanizmów prowadzących do zaburzeń jakości nasienia i obniżenia płodności u mężczyzn;
- Analizy wpływu uaktualnienia w 2021 roku przez WHO kryteriów diagnostycznych niepłodności męskiej na wnioski dotyczące stężeń PUFAs wyciągnięte przez badaczy przed aktualizacją wytycznych.

Ocena poszczególnych artykułów wchodzących w skład rozprawy:

- Artykuł przeglądowy: "PUFAs and Their Derivatives as Emerging Players in Diagnostics and Treatment of Male Fertility Disorders" opublikowany w czasopiśmie *Pharmaceuticals*

  Artykuł ten wprowadza czytelnika w temat męskiej niepłodności oraz najważniejszych czynników zwiększających prawdopodobieństwo jej wystąpienia. Przedstawia aktualny stan wiedzy na temat składu jakościowego i ilościowego PUFAs w

błonach plemników i w całym ejakulacie. Ponadto zawiera informacje o PUFAs i pochodnych AA w plazmie nasienia w zależności od rodzaju niepłodności. W artykule tym wskazano również rolę diety i suplementacji PUFAs w utrzymaniu płodności. Pokazano także wyniki badań dotyczące korelacji wybranych PUFAs i metabolitów AA z parametrami nasienia. Analizy tej dokonano poprzez przegląd ponad 10 000 dostępnych artykułów opublikowanych w latach 1963-2023. Praca ta cytuje 101 pozycji literaturowych i około połowa z nich to artykuły z okresu ostatnich 10 lat od opublikowania tego artykułu. Do końcowej analizy zgromadzonego materiału zakwalifikowano 89 najbardziej aktualnych i adekwatnych prac. Artykuł ten to obszerny przegląd literatury tematu. Jest bogato ilustrowany i zawiera 10 figur oraz 2 tabele. Praca ta trafnie wskazuje na potrzebę wykorzystania PUFAs i ich pochodnych jako nieinwazyjnego narzędzia diagnostycznego niepłodności męskiej, zwłaszcza gdy wytyczne WHO w tym zakresie ulegają zmianie. Wkład indywidualny Doktoranta w powstanie tej pracy to: stworzenie koncepcji i założeń badań, metodologia, wizualizacja, współtworzenie manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje.

- Artykuł oryginalny I: "GC–MS/MS analysis of seminal plasma PUFAs in distinct subgroups of infertile men: diagnostic potential and insight into mechanisms of male infertility" opublikowany w czasopiśmie *Scientific Reports*.

Celem tego badania było określenie stężeń wybranych PUFAs w plamach nasienia mężczyzn płodnych i niepłodnych. Opracowano i zoptymalizowano warunki ekstrakcji PUFAs z plazmy nasienia oraz przystosowano metodę GC-MS/MS, co było nowatorskim podejściem, ponieważ metoda ta nie była dotąd wykorzystywana do analizy PUFAs w plazmie nasienia. W opublikowanej pracy przedstawiono technikę GC-MS/MS w sposób bardzo szczegółowy. Uzyskane wyniki wskazują, że mężczyźni niepłodni mają istotnie wyższe mediany stężeń badanych PUFAs (LA, GLA, EPA i DHA) w porównaniu z płodnymi. Wykonane analizy stosunku stężeń ALA/LA, EPA/ALA, EPA/GLA, EPA/AA były również istotnie wyższe u mężczyzn niepłodnych. Wyniki te po raz pierwszy wskazały na użyteczność niektórych PUFAs w diagnostyce niepłodności męskiej. Wydaje się, że EPA, czyli kwas eikozapentaenowy, może być umiarkowanym klasyfikatorem z uwagi na AUC = 0.709. Dodatkowym celem tej pracy była korelacja PUFAs z parametrami jakości nasienia. Wskazano różnice w stężeniach badanych PUFAs pomiędzy poszczególnymi podgrupami mężczyzn niepłodnych.

Praca ta zawiera również analizę wpływu uaktualnienia w 2021 przez WHO kryteriów diagnostycznych niepłodności męskiej na wnioski dotyczące stężeń PUFAs wyciągnięte przez badaczy przed aktualizacją wytycznych. Nie stwierdzono różnic w analizowanych parametrach, ich interpretacji i klasyfikacji pacjentów według wytycznych WHO z 2010 i 2021. Wkład indywidualny Doktoranta w powstanie tej pracy to: współtwórca pomysłu, współuczestnictwo w opracowaniu metodologii, uczestnictwo w pozyskiwaniu materiału biologicznego grupy płodnych mężczyzn, wykonanie analiz, przygotowanie manuskryptu, odpowiedzi na recenzje oraz zdobycie funduszy na badania.

- Artykuł oryginalny II: "Biomarkers and Mechanisms of Male Infertility: Evaluation of Antioxidant Enzymes and Arachidonic Acid Derivatives in Seminal Plasma from Fertile and Infertile Men" opublikowany w czasopiśmie *Antioxidants*.

  Praca ta zawiera badania określające różnice stężeń wybranych parametrów stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego (PGE_2, 6-keto-$PGF_{1\alpha}$, F2-izoprostan, enzymy antyoksydacyjne SOD_1, GPX_1 i NOS_1) w plazmie nasienia pomiędzy mężczyznami płodnymi i niepłodnymi w celu oceny ich potencjału diagnostycznego w męskiej niepłodności. Kryteria wyboru tych parametrów do badań, jak i wykonania poszczególnych korelacji pomiędzy badanymi czynnikami a parametrami jakości nasienia są w sposób logiczny przez Doktoranta opisane. Nie wykazano istotnych różnic w wartościach stężeń analizowanych parametrów pomiędzy mężczyznami płodnymi i niepłodnymi. Niemniej jednak poznano poziom tych parametrów w plazmie nasienia, ponieważ nie był on wcześniej dostępny w literaturze naukowej. Porównanie mężczyzn niepłodnych ujawniło różnice w podgrupach. Stwierdzono umiarkowane korelacje badanych parametrów stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego z parametrami nasienia. Wkład indywidualny Doktoranta w powstanie tej pracy to: współtworzenie koncepcji i dobór metodologii badań, uczestnictwo w pozyskiwaniu materiału biologicznego grupy płodnych mężczyzn, wykonanie części eksperymentalnej i analiz oraz interpretacji wyników, przygotowanie manuskryptu, odpowiedzi na recenzje oraz zdobycie funduszy na badania.

Podsumowując tę część recenzji, Doktorant, aby zrealizować cele pracy doktorskiej, zastosował dwie metody badawcze (GC-MS/MS, ELISA) i kilka statystycznych dostępnych w pakiecie oprogramowania Statistica 13.3 PL i GraphPad Prism. Na badania uzyskano odpowiednie opinie Komisji Bioetycznej UM we Wrocławiu. W pracach podano jasne kryteria włączenia i wyłączenia z badań. Testowano 250 próbek plazmy nasienia pochodzących od mężczyzn niepłodnych i 22 próbki od mężczyzn płodnych. W tych próbkach wykonano standardowe badanie parametrów jakości nasienia zgodnie z wytycznymi WHO z 2021 roku. Doktorant przeprowadził właściwe analizy statystyczne i wyciągnął wnioski adekwatne do uzyskanych wyników, wskazując również po analizie ROC, czy dany parametr ma znaczenie diagnostyczne. Ponadto, Doktorant wskazał potrzebę wprowadzenia dodatkowego parametru do badania ogólnego nasienia, tj. koncentracja plemników o nieprawidłowej morfologii. Nowatorskim podejściem (o czym już wcześniej wspomniano) jest zastosowanie metody GC-MS/MS do analizy PUFAs, która wykorzystuje minimalną objętość próbki plazmy nasienia (75 µl) i skrócony czas badania. Wyniki wskazują, że plazma nasienia jest nieinwazyjnym źródłem biomarkerów, które mogą przyczynić się do poznania mechanizmów zaburzeń płodności męskiej i, jak trafnie wskazał Doktorant, może się to przełożyć na rozwój spersonalizowanych strategii diagnostyczno-terapeutycznych. Doktorant w sposób krytyczny skonfrontował swoje wyniki z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy. Dyskusje w artykułach będących podstawą tej rozprawy są obszerne i wskazują na dobrą znajomość badań przeprowadzonych w tym temacie na świecie.

Jeśli chodzi o niedociągnięcia, które z obowiązku recenzenta należy wskazać, to mała liczebność grupy płodnych mężczyzn zakwalifikowanych do badania (n=22), co ogranicza moc statystyczną badań. Sami autorzy publikacji, które są podstawą tej rozprawy doktorskiej,

są tego świadomi i wskazują na konieczność wykonania badań na znacznie większych grupach mężczyzn. Z drugiej jednak strony rozumiem, że płodni mężczyźni nie zgłaszają się do klinik wspomaganego rozrodu, ponieważ nie mają problemów z płodnością, dlatego dostęp do bardzo dobrze scharakteryzowanej i homogennej grupy był utrudniony. Dlatego kolejnym ważnym aspektem jest to, że podczas rekrutacji nie zebrano informacji na temat potencjalnych czynników zakłócających, takich jak nawyki żywieniowe, wskaźnik masy ciała, palenie tytoniu itp. Skoro poziom PUFAs zależy od diety, takie informacje powinny być uwzględnione podczas rekrutacji. Skąd wynikały te niedociągnięcia i jak wyglądała procedura włączenia tych panów do badań? Z tego też względu badania przedstawione w tej rozprawie doktorskiej dostarczają raczej wstępnych informacji na temat prawdopodobnych związków między ekspresją wybranych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w osoczu nasienia a niektórymi nieprawidłowościami nasienia prowadzącymi do niepłodności męskiej.

Dorobek całkowity Doktoranta to 8 prac oryginalnych opublikowanych w recenzowanych czasopismach z IF, w których jest on pierwszym autorem aż w 6 z nich. Łączny IF to 35,306 i 960 pkt. MNiSW. Doktorant ponadto 16-krotnie prezentował wyniki badań lub był współautorem zagranicznych lub krajowych doniesień konferencyjnych. Należy podkreślić, że był kierownikiem grantu NCN Preludium 22 oraz grantów Wrocławskiego Centrum Akademickiego, SKN i UMW. Dane przedstawione przez Doktoranta wskazują również na to, że był członkiem zespołów badawczych realizujących zadania statutowe Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej. Magister Rodak odbył również staż w Laboratorium Spektroskopii Ramanowskiej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Ponadto, Doktorant jest członkiem kilku towarzystw i organizacji naukowych. Pan Kami Rodak spełniał się również w roli organizatora różnego rodzaju warsztatów dla licealistów i wydarzeń w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki. Aktywność ta wskazuje na dużą chęć i potrzebę Doktoranta w poszerzaniu swojej wiedzy, rozwoju naukowym oraz popularyzacji nauki.

Należy podkreślić, że Doktorant podjął się bardzo ambitnego tematu i wykonał ogrom pracy. W sposób logiczny i merytoryczny przechodził do kolejnych etapów pracy eksperymentalnej i osiągnięcia założonych celów. W sposób adekwatny do uzyskanych wyników wyciągnął wnioski. Rozprawa doktorska, autorstwa mgra Kamila Rodaka spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 1571 tj.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgra Kamila Rodaka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora. Z uwagi na opublikowanie badań w znaczących i recenzowanych czasopismach naukowych wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Z wyrazami szacunku,

[redacted]