

UNIwersytet MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Katedra Biofarmacji

85-089 Bydgoszcz, ul. dr. A. Jurasza 2, tel. (+48 52) 585-3900; fax: (+48 52) 585-3804

e-mail: adam.bucinski@cm.umk.pl

Bydgoszcz, dnia 7 lipca 2023 roku

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Weroniki Marii Baszanowskiej

pt.: „Wpływ pozakomórkowej prolidazy na procesy regeneracyjne w eksperymentalnym modelu gojenia ran oraz zapalenia indukowanego IL-1 β w fibroblastach skóry ludzkiej”

wykonanej pod kierunkiem prof. dr. hab. Jerzego Pałki w Zakładzie Chemii Leków na

Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu

Medycznego w Białymstoku.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma układ pracy eksperymentalnej. Właściwą część rozprawy, obejmującą 152 ponumerowane strony, rozpoczynają: strona tytułowa oraz podziękowania Doktorantki. Na dalszych dwóch stronach odnajdziemy części: *Spis treści* oraz *Finasowanie* zawierające informację o źródle finansowania badań¹, a następnie *Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej*^{2,3}.

Kolejne strony dysertacji przeznaczono na *Wstęp* zapoznający czytelnika z tematyką, której dotyczy rozprawa. Przedstawiono w nim istotne informacje na temat prolidazy, jej budowy, właściwości oraz funkcji enzymatycznej i nieenzymatycznej jaką pełni w organizmie. Należy zaznaczyć, że ta część dysertacji została napisana ładnym i przystępnym w odbiorze językiem, pozwalając również osobie, która na co dzień nie zajmuje się tą specjalistyczną problematyką, na dobre wprowadzenie w zagadnienia, którym poświęcona jest rozprawa. Ta część pracy została wsparta właściwie dobranym i wykorzystanym w tekście piśmiennictwem specjalistycznym.

¹ Grant NCN OPUS nr 2017/25/B/NZ7/02650 pt.: „Prolidaza jako czynnik pobudzający gojenie ran w eksperymentalnych modelach komórek skóry”.

² Baszanowska W., Misiura M., Oscilowska I., Pałka J. and Mityk W. *Extracellular Prolidase (PEPD) Induces Anabolic Processes through EGFR, β_1 -integrin and IGF-1R Signaling Pathways in an Experimental Model Wounded Fibroblasts*, *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22, 945 (IF: 6,208; MEN: 140).

³ Baszanowska W., Nizioł M., Oscilowska I., Czyrko-Horeczak J., Mityk W and Pałka J. *Recombinant Human Prolidase (rhPEPD) Induces Wound Healing in Experimental model of Inflammation through Activation of EGFR Signalling in Fibroblasts*. *Molecules* 2023, 28, 851 (IF: 4,927; MEN: 140).

Na kolejnej stronie tekstu przedstawiono *Cel pracy wraz z uzasadnieniem podjętej tematyki badawczej*, który zakładał dwa uzupełniające się kierunki badań. Pierwszy dotyczy oceny wpływu prolidazy z nerek świni (PEPD) na żywotność, proliferację, migrację komórek, ekspresję wybranych białek szlaków sygnałowych zależnych od receptora nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR), integryny $\beta 1$ i IGF-1R oraz biosyntezę kolagenu w eksperymentalnym modelu uszkodzonych mechanicznie fibroblastów skóry ludzkiej. Drugi kierunek badań skoncentrowany był na ocenie wpływu rekombinowanej prolidazy ludzkiej na żywotność, proliferację, migrację komórek, ekspresję wybranych białek szlaków sygnałowych zależnych od EGFR i integryny $\beta 1$ oraz biosyntezę kolagenu w eksperymentalnym modelu zapalnym indukowanym IL-1 β w fibroblastach skóry ludzkiej. Cel pracy oraz jego uzasadnienie zostały zdefiniowane i przedstawione w sposób jasny. By zakładany cel zrealizować Doktorantka musiała zaplanować i wykonać specjalistyczne oraz pracochłonne pomiary. Przyznam, że z dużym zainteresowaniem zapoznałem się z dalszymi stronami pracy, przechodząc do kolejnych jej części, zatytułowanych odpowiednio *Materiały i metody badawcze* oraz *Wyniki*. Doktorantka przedstawiła tam informacje dotyczące zastosowanych modeli eksperymentalnych oraz najważniejsze wyniki opublikowane w dwóch pracach oryginalnych stanowiących podstawę rozprawy. Doktorantka w tych pracach jest pierwszą i zarazem wiodącą Autorką, co zostało potwierdzone stosownymi oświadczeniami Współautorów.

Chciałbym nadmienić, że w dalszych częściach mojej opinii nie będę się odnosił szczegółowo do materiałów oraz warunków pomiarowych, które zastosowała Doktorantka. Zostały one dokładnie opisane we wspomnianych publikacjach i są dostępne dla osób zainteresowanych tą tematyką badawczą w zasobach internetu. Skoncentruję się głównie na ocenie wykonanych przez Doktorantkę badań w odniesieniu do stawianego celu pracy oraz podsumowaniu wyników uzyskanych podczas ich realizacji. Nadmienię tylko, że zastosowane metody i warunki pomiarów zostały odpowiednio dobrane.

Doktorantka w pierwszej z prac przedstawiła wyniki badań nad wpływem PEPD na żywotność fibroblastów, na biosyntezę DNA i migrację fibroblastów, na indukcję szlaków sygnałowych zależnych od EGFR oraz ekspresję receptora integrynowego $\beta 1$,

IGF-1R oraz białek sygnałowych zależnych od tych receptorów. Dokonała również oceny wpływu PEPD na biosyntezę kolagenu w mechanicznie uszkodzonych fibroblastach.

W drugiej pracy odnajdziemy opis badań z zastosowaniem modelu zapalenia indukowanego IL-1 β w fibroblastach ludzkich. Skupiono się w niej na wpływie rekombinowanej ludzkiej prolidazy (rhPEPD) na procesy regeneracyjne. Badania obejmowały ocenę jej oddziaływania na żywotność i proliferację fibroblastów oraz wpływ na szlak sygnałowy zależny od EGFR. Interesujące są studia nad wpływem rhPEPD na sygnalizację receptora integrynowego β 1, nad migracją fibroblastów i aktywnością metaloproteiny-2 i -9 (MMP-2 i MMP-9), biosyntezą kolagenu w fibroblastach oraz wpływem na biosyntezę kolagenu w fibroblastach traktowanych IL-1 β w modelu gojenia ran. Należy podkreślić, że sposób raportowania wyników eksperymentów jest przejrzysty i logiczny, co ułatwia całościową analizę przeprowadzonych badań. Na uwagę zasługują ryciny, na których w czytelny sposób przedstawiono wyniki wraz z ich oceną statystyczną.

W kolejnej części dysertacji odnajdziemy *Podsumowanie i dyskusję*, którą Doktorantka podparła należycie dobranym piśmiennictwem. Można tam dostrzec umiejętności mgr Weroniki Baszanowskiej do wyważonej i krytycznej oceny szerokiego zakresu wykonanych eksperymentów oraz uzyskanych danych. Sposób przedstawienia dyskusji nie budzi wątpliwości co do bardzo dobrego przygotowania Doktorantki i Jej predyspozycji do pracy badawczej. Potwierdzeniem tego jest również umiejętność wyciągania trafnych konkluzji, które zostały przedstawione w trzech punktach na kolejnej stronie, w części zatytułowanej *Wnioski*. Doktorantka wykazała, że:

1. Zewnątrzkomórkowa prolidaza zwierzęca jako ligand EGFR stymuluje fibroblasty do proliferacji, migracji i biosyntezy kolagenu, co jest szczególnie widoczne w warunkach mechanicznego uszkodzenia komórek.
2. Rekombinowana ludzka prolidaza pobudza proliferację, migrację, biosyntezę kolagenu i aktywność MMP-2 i MMP-9 w eksperymentalnym modelu zapalenia indukowanego IL-1 β . Mechanizm tego procesu obejmuje komunikację między EGFR, receptorem integrynowym β 1, IGF-1R i IL-1 β .
3. Rekombinowana ludzka prolidaza może stanowić potencjalny środek terapeutyczny przyspieszający gojenie się ran.

Konkluzje są uzasadnione i mają odzwierciedlenie w przeprowadzonych badaniach.

Na dalszych stronach odnajdziemy rozdział *Literatura*, zawierający 124 pozycje źródłowe. Wszystkie te pozycje zostały umiejętnie dobrane i użyte w tekście pracy. Świadczy to jednoznacznie o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki do prezentowanych w rozprawie badań i z pewnością przyczyniło się do zrozumienia zjawisk i procesów, które obserwowwała podczas wykonywanych licznych testów.

Dalsze strony rozprawy poświęcono na *Streszczenie w języku polskim* i *Streszczenie w języku angielskim*. Choć objętościowo ta część tekstu stanowi niewielką część całości, to jest bardzo ważna, często bowiem to od niej zależy, czy zachęci czytelnika do zapoznania się z całością dzieła. W przekonaniu recenzenta, zadanie to zostało w pełni spełnione.

Do pracy załączono również pełne kopie publikacji składających się na rozprawę doktorską, zgodę Komisji Bioetycznej oraz spójne oświadczenia Doktorantki i Współautorów prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, jak i dorobek naukowy Kandydatki. Dorobek ten obejmuje dziewięć prac naukowych (bez prac wchodzących w skład doktoratu), 14 komunikatów ze zjazdów i konferencji naukowych w większości prezentowanych za granicą. Odnajdziemy tam również informację, że mgr Weronika Baszanowska brała udział w realizacji projektu badawczego finansowanego przez NCN i dwóch projektów statutowych. Odbyła również dwumiesięczny staż w Centrum Neuronauki i Biologii Komórki w Uniwersytecie Coimbrze w Portugalii.

Należy zauważyć, że całkowity dorobek naukowy Kandydatki (wliczając prace wchodzące w skład rozprawy) jest bardzo dobry, w ujęciu naukometrycznym przedstawia się następująco: $IF=59,914$ co daje 1580 pkt. MEN. Baza *Web of Science* podaje, że indeks h wynosi 5, a liczba cytowań 83, baza *Scopus* podaje odpowiednio wartości 5 i 85 (dane na dzień sporządzenia recenzji).

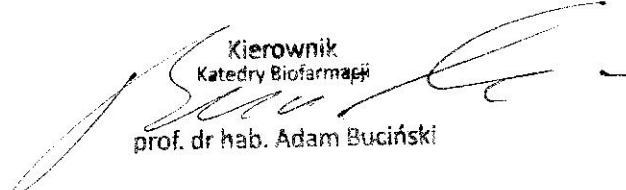
Podsumowując, po zapoznaniu się z całością rozprawy stwierdzam, że rozprawa została napisana starannie. Jednak, pomimo korekty autorskiej, w tekście pracy można napotkać drobne błędy edytorskie. Z obowiązku recenzenckiego wymienię kilka z nich. Na stronie 8, w pierwszym wersie, napisano: „Uwolniona prolina uczestnicy w resyntezie kolagenu, ...” zamiast: „Uwolniona prolina uczestniczy w resyntezie kolagenu, ...”. Na stronie 25, na rycinie, jest: „Fibroblasty skóry ludzkiej” a powinno być: „Fibroblasty skóry ludzkiej”. Strona 44, wersy 18-19, w miejscu: „Podczas procesu gojenia ran

fibroblasty migrują do miejsc zapalanych, gdzie proliferują i wytwarzają składniki ECM”. powinno być: „Podczas procesu gojenia ran fibroblasty migrują do miejsc zapalnych, gdzie proliferują i wytwarzają składniki ECM”. Chcę zaznaczyć, że te drobne uwagi nie wpływają negatywnie na całościową opinię o pracy, którą oceniam bardzo wysoko.

Wracając do zrealizowanych przez Doktorantkę badań należy podkreślić, że zostały one zaplanowane i wykonane prawidłowo a zakładane cele badawcze zostały zrealizowane. Praca została napisana prawidłowo, ładną polszczyzną i stanowi oryginalne osiągnięcie mgr Weroniki Marii Baszanowskiej, wnoszące nowe istotne dane do prezentowanej tematyki badawczej. Cel badań został jasno zdefiniowany, pomiary zostały prawidłowo zaplanowane i wykonane. Należy podkreślić ważną i aktualną tematykę, której dotyczy rozprawa. Dyskusja wyników jest wyważona, poparta wynikami eksperymentów i aktualnym piśmiennictwem, co jednoznacznie świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Kandydatki ubiegającej się o stopień naukowy doktora w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca doktorska, pt.: *„Wpływ pozakomórkowej prolidazy na procesy regeneracyjne w eksperymentalnym modelu gojenia ran oraz zapalenia indukowanego IL-1 β w fibroblastach skóry ludzkiej”* wykonana pod kierunkiem prof. dr. hab. Jerzego Pałki spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne, tym samym wnioskuję do Wysokiego Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Weroniki Marii Baszanowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie z uwagi na wysoką jakość i ważność dostarczonych nowych danych, w tym wykazanie, że prolidaza aktywuje proces gojenia ran poprzez pobudzenie proliferacji i migracji komórek w eksperymentalnym modelu uszkodzonych mechanicznie fibroblastów i w modelu zapalenia indukowanego IL-1 β składam do Wysokiego Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o wyróżnienie.

Kierownik
Katedry Biofarmacji

prof. dr hab. Adam Buciński