



Warszawa, 31.10.2022

**Recenzja rozprawy doktorskiej magister Joanny Sutkowskiej-Skolimowskiej.**

**Tytuł rozprawy: „*The effect of rosemary and lemon balm extracts and rosmarinic acid on collagen type I metabolism in fibroblasts from Osteogenesis Imperfecta patients*”.**

Analizując prace doświadczalne publikowane z zakresu biomedycyny czytelnik z pewnością odczuwa przesłania koncepcyjne badaczy, rozpoznaje metodologię prac, jest zaintrygowany wynikami i docieka istotności przeprowadzonych badań weryfikując dyskusję. Wykształcenie zarówno piszącego prace, jak i odbiorcy jest istotne, aby torować postęp w nauce. Czy badana substancja, której efekt terapeutyczny wykazuje się w doświadczeniach *in vitro*, będzie mieć inklinację w terapii, bardzo często może weryfikować tylko czas, którego przebieg, tempo są oczywiście wspólne zarówno dla badacza, jak i chorego.

Niewątpliwie prowadzenie badań w oparciu o unikalne metody i przede wszystkim opierając się na bezcennym doświadczeniu opiekuna może czynić pracę naukową samoistnie wiarygodną. Pani Prof. Annie Galickiej gratuluję osiągnięcia doktorskiego Pani mgr Sutkowskiej-Skolimowskiej.

Rozprawa doktorska mgr Joanny Sutkowskiej-Skolimowskiej opiera się na dwóch publikacjach oryginalnych dotyczących tematyki związanej z oceną wpływu ekstraktów z rozmarynu oraz melisy oraz kwasu rozmarynowego na aktywność ekspresyjną fibroblastów pochodzących głównie od pacjentów cierpiących na *osteogenesis imperfecta*. Prace opublikowano w dobrze rozpoznawalnych pismach o zasięgu międzynarodowym i wysokich współczynnikach oddziaływania (IF). Łączny IF prac wynosi 12,733, MEiN = 240.

Publikacje wchodzące w skład opracowania doktorskiego:

1. **Sutkowska J**, Hupert N, Gawron K, Strawa JW, Tomczyk M, Forlino A, Galicka A. The Stimulating Effect of Rosmarinic Acid and Extracts from Rosemary and Lemon Balm on Collagen Type I Biosynthesis in Osteogenesis Imperfecta Type I Skin Fibroblasts.  
*Pharmaceutics* 2021 Jun 23;13(7):938.doi: 10.3390/pharmaceutics13070938.
2. **Sutkowska-Skolimowska J**, Branska-Januszewska J, Strawa JW, Ostrowska H, Botor M, Gawron K, Galicka A. Rosemary Extract-Induced Autophagy and Decrease in Accumulation of Collagen Type I in Osteogenesis Imperfecta Skin Fibroblasts.  
*Int J Mol Sci.* 2022 Sep 7;23(18):10341. doi: 10.3390/ijms231810341.

W obu publikacjach Doktorantka jest pierwszą autorką. W dysertacji Doktorantka deklaruje swój bezpośredni udział w pracach (60%) oraz załącza odpowiednie oświadczenia współautorów informujące o udziale w zdefiniowanych badaniach oraz akceptujące wykorzystanie uzyskanych wyników w formie rozprawy doktorskiej Pani mgr Sutkowskiej-Skolimowskiej.

Jakość badań doktorskich Pani mgr Sutkowskiej-Skolimowskiej została zweryfikowana w przebiegu procedur publikacyjnych prowadzonych przez redakcje pism - *Pharmaceutics* oraz *International Journal of Molecular Sciences*. Prace uzyskały formalną aprobatę środowiska ekspertów. W rozprawie doktorskiej (przygotowanej w języku angielskim) część publikacyjną poprzedzają krótkie rozdziały dotyczące bezpośrednio tematyki badań głównie *osteogenesis imperfecta*, biosyntezy / zmian w sekwencjach genów kolagenu typu I, zdarzeń komórkowych zależnych od retikulum endoplazmatycznego. Doktorantka przedstawia również, lakonicznie jednak, przygotowany rozdział związany z terapią niezwykle skądinąd cierpiących ludzi - chorych na *osteogenesis imperfecta*. W kontekście procedur związanych z obroną pracy doktorskiej proszę o przygotowanie wypowiedzi na temat rozwiązań terapii genowej w *osteogenesis imperfecta* ze szczególnym uwzględnieniem funkcjonalności rekombinowanych wektorów AAV. Dysertacja zawiera również rozdział *Cel badań*, w którym w mojej opinii zbytecznym jest powtarzanie sygnalizowanego już wcześniej w pracy bloku informacyjnego (str.14). Cele powinny być jasno wyszczególnione. Rozdział *Materiały i metody* jest

reprezentatywny dla środowiska badawczego Doktorantki, dominuje metodologia DNA, RNA i białek, włączając ciekawe funkcjonalne testy jak zymografia (MMP). Uzupełnienia / rozwinięcia metod zawarte są oczywiście w załączonych pracach oryginalnych Doktorantki. Dysertacja zawiera również streszczenia w języku angielskim i polskim. W streszczeniach obecny jest żargon laboratoryjny, którego w tak prezentowanej formie powinno się unikać np. „...*quantitative defect of collagen...*” (str. 34), „...*poprawić ilościowy defekt...*” (str. 36). Rozprawa zawiera także piśmiennictwo w liczbie 75, z którego niestety niemalże 50% stanowią publikacje starsze niż 5 lat.

Wartość merytoryczną pracy doktorskiej Pani mgr Joanny Sutkowskiej-Skolimowskiej w sposób niezaprzeczalny podkreślają rozwiązania badawcze, procedury badawcze, poruszanie się w środowisku zupełnie aktualnej metodologii biologii molekularnej. Osiągnięciem jest przeprowadzenie badań z wykorzystaniem komórek linii pierwotnych fibroblastów wyprowadzonych bezpośrednio od pacjentów (*osteogenesis imperfecta*). Ustalanie linii pierwotnych jest zabiegiem niezwykle czasochłonnym i pracochłonnym, wiąże się z dość sporym prawdopodobieństwem niepowodzenia. Doktorantka przeprowadziła badania na pięciu oryginalnych, pierwotnych liniach komórkowych (OI I-III) zmapowanych pod względem mutacji w genie kolagenu typu I. Linie zostały udostępnione przez dr n. biol. Karolinę Bajdak-Rusinek (Zakład Genetyki Klinicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny; pismo z 20.04.2022?). Komórki linii zostały eksponowane na ekstrakty z rozmarynu oraz melisy oraz kwasu rozmarynowego (RE, LBE i RA). Oceniano wpływ ekstraktów na biologię komórek, szczególnie weryfikując ekspresję kolagenu typu I. W analizach uwzględniono ilościową ekspresję genów (qPCR). Doktorantka dowodzi, iż zastosowane ekstrakty zmniejszają komórkowy poziom nieprawidłowego kolagenu typu I (OI typ III, OI typ II) na drodze głównie autofagii. Wykazano także wpływ RE, LBE i RA na aktywność metaloproteaz (MMP-1, 2, 9). Ciekawym jest również, iż w komórkach OI eksponowanych na RE obserwowano degradację niesfałdowanych łańcuchów prokolagenowych, równoczesne obniżenie ekspresji genów proapoptotycznych np. *Bax* może istotnie wskazywać na efekt protekcyjny rozmarynu. Doceniając wartości poznawcze pracy, pojawia się oczywiście pytanie jaka jest bezpośrednia funkcjonalność terapeutyczna przeprowadzonych badań z wykorzystaniem skądinąd znanych już w środowisku farmaceutycznym surowców? Doktorantka we wnioskach konkluduje o potrzebie badań *in vivo*. Jednak czy już teraz wyniki uzyskane w oparciu o wartościowe linie komórek pochodzących od pacjentów wnosić mogą użyteczność dla pacjenta?

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pani magister Joanny Sutkowskiej-Skolimowskiej jest wartościowym, oryginalnym opracowaniem naukowym, które spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018r. Niniejszym zwracam się do Wysokiego Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pani mgr Joanny Sutkowskiej-Skolimowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

**WARSZAWSKI  
UNIwersYTET MEDYCZNY  
Zakład Farmacji Stosowanej  
02-097 Warszawa, ul. Banacha 1  
Tel/Fax (022) 57-20-978, tel. (022) 57-20-977**

**KIEROWNIK  
Zakładu Farmacji Stosowanej**  
*Maciej Małecki*  
**prof. dr hab. n farm. Maciej Małecki**