

Recenzja

Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Zakład Farmacji
Aptecznej

41-200 Sosnowiec
ul. Kasztanowa 3
www.chemklin.sum.edu.pl

KIEROWNIK ZAKŁADU
prof. dr hab. n. farm.
Paweł Olczyk
polczyk@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 269 98 31
fax: (+48 32) 269 98 39

farmacja_apteczna@sum.edu.pl
www.sum.edu.pl

rozprawy doktorskiej pt. *„Wpływ pozakomórkowej prolidazy na procesy regeneracyjne w eksperymentalnym modelu gojenia ran oraz zapalenia indukowanego IL-1β w fibroblastach skóry ludzkiej.”*, wykonanej przez Panią mgr Weronikę Marię Baszanowską, pod kierunkiem Promotora – **Pana prof. dr hab. n. farm. Jerzego Pałki.**

Naprawa uszkodzeń tkankowych reprezentuje interaktywny, dynamiczny proces, postępujący z uwzględnieniem nakładających się, wzajemnie oddziałujących faz (hemostazy, zapalenia, replikacji oraz biosyntezy, remodelingu), przyczyniający się do zastąpieniu uszkodzonych struktur żywą tkanką. Ponowne ustanowienie integralności strukturalnej stanowi następstwo interakcji – podlegającej precyzyjnej regulacji biochemicznych mediatorów takich jak m.in. cytokiny, czynniki wzrostowe, interferony, prostaglandyny czy leukotrieny – komórek (e.g. monocytów/makrofagów, neutrofilii, fibroblastów, komórek śródbłonkowych, keratynocytów, płytek krwi), komponentów macierzy pozakomórkowej (i.e. glikozaaminoglikanów, proteoglikanów, kolagenu typu I, kolagenu typu III, fibronektyny, trombospondyny, tenascyny, witronektyna) nie pomijając enzymów – metaloproteinaz macierzowych (Matrix metalloproteinases – MMPs). Do rodziny MMPs, współtworzonej przez 28 „członków”, spośród których występowanie przynajmniej 23 zaobserwowano u ludzi, zalicza się zaś stanowiącą przedmiot dociekań naukowych Doktorantki – enzym prolidaza. Ta ostatnia natomiast katalizująca hydrolizę imidodipeptydów (oraz wedle niektórych źródeł także i imidortipeptydów) zawierających C-końcówą prolinę lub hydroksyprolinę, cechuje się kluczową funkcją w pozyskiwaniu pierwszego z wymienionych iminokwasów oraz – znaczącym udziałem w regulacji biosyntezy kolagenu. Kolagen natomiast, w przebiegu gojenia aktywnie uczestniczy m.in. w „wiązaniu” czynników krzepnięcia; w agregacji i regulacji aktywności sygnałnej płytek krwi; w powstawaniu włókna; w tworzeniu prowizorycznego „rusztowania” ułatwiającego migrację komórkową; w regulacji zjawiska kontrakcji komórkowej; w modulowaniu różnicowania miofibroblastów; w kreowaniu niszy regeneracyjnej dla komórek progenitorowych. Mając na uwadze powyższe - problematyka badawcza stanowiąca przedmiot rozważań Doktorantki, opisana w przedłożonej do oceny dysertacji wpisuje się w zakres naukowych dokonań, realizowanych (przy aktywnym współuczestnictwie Pani mgr Baszanowskiej) nieprzerwanie przez zespół Pana Profesora Jerzego Pałki, omówionych na łamach, prestiżowych czasopism (International Journal of Molecular Sciences, Molecules, Frontiers in Molecular Biosciences, Amino Acids, Biomolecules, Journal of Clinical Medicine czy Molecular and Cellular



Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Zakład Farmacji
Aptecznej

41-200 Sosnowiec
ul. Kasztanowa 3
www.chemklin.sum.edu.pl

KIEROWNIK ZAKŁADU
prof. dr hab. n. farm.
Paweł Olczyk
polczyk@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 269 98 31
fax: (+48 32) 269 98 39

farmacja_apteczna@sum.edu.pl
www.sum.edu.pl

Biochemisty), spośród których wybrane doniesienia legły u podstaw przedłożonego do oceny manuskryptu. Przedstawione przez Panią mgr Weronikę Marię Baszanowską wyniki wpisują się w tematykę naukową Jednostki reprezentując konsekwentną kontynuację opracowanego przez Pana Profesora Jerzego Pałkę nurtu badań – wysoce zgodnego z aktualnym stanem wiedzy i kierunkiem współczesnej problematyki biomedyczo – farmaceutycznej.

Przedłożoną do weryfikacji dysertację tworzą dwa, logicznie i tematycznie powiązane oryginalne artykuły, upublicznione w skasyfikowanych na tzw. Liście filadelfijskiej czasopism fachowych e.g. International Journal of Molecular Sciences (wartość współczynnika oddziaływania IF = 6,208; punktacja MEiN = 140) oraz Molecules (wartość współczynnika oddziaływania IF = 4, 927; punktacja MEiN = 140), w których Pani Magister zajmuje pierwsze miejsce na liście Autorów. Wybrane, współtworzące monotematyczny cykl, oryginalne publikacje, „dopełnione” zostały nie tylko oświadczeniami Doktorantki czy Współautorów (wskazującymi na wiodący udział pierwszej Autorki – w m.in. zaprojektowaniu strategii doświadczalnych, realizacji istotnych etapów procedur eksperymentalnych, ocenie statystycznej i interpretacji uzyskanych rezultatów badawczych dokonań czy też przygotowaniu manuskryptów – korespondujący logicznie z 70% wkładem w opracowanie finalnych postaci, upublicznionych w artykułach) lecz także informacją dotyczącą finansowania doświadczeń (grant OPUS2017/25/B/NZ7/02650; „Prolidaza jako czynnik pobudzający gojenie ran w eksperymentalnych modelach komórek skóry”, Narodowe Centrum Nauki”). Zbiór omawianych publikacji wsparty jest fachowo zredagowanym Opracowaniem, obejmującym m.in.: – *Rozdział Wprowadzenie* przedstawiający syntetyczną charakterystykę genu prolidazy, budowy i właściwości przedmiotowej dipeptydazy prolinowej wraz z opisem enzymatycznej i nieenzymatycznej funkcji omawianej metaloproteiny. W dalszej części *Rozdziału Wprowadzenie* Autorka prezentuje wyczerpujące informacje na temat odgrywania przez prolidazę roli jako liganda ErbB1/EGFR bądź też funkcjonowania przez stanowiącą przedmiot rozważań imidodipeptydazę liganda ErbB2/HER2. Weryfikowany fragment dysertacji wieńczy – opracowany w oparciu o najnowsze dane z piśmiennictwa – precyzyjny opis pełnienia przez prolidazę czynności regulatorowych względem białka p53 oraz w odniesieniu do molekuly receptora interferonu α/β . – *Cel pracy z uzasadnieniem podjętej tematyki badawczej* – klarownie precyzujący istotę logicznie zaprojektowanej i zaplanowanej strategii eksperymentalnej. – *Materiały i metody badawcze*, w których Doktorantka wyszczególniła logicznie „skonstruowaną” sekwencję, wysoce zaawansowanych zadań eksperymentalnych – umożliwiających realizację nadrzędnego zadania naukowo-badawczego, sformułowanego w celu pracy – z uwzględnieniem

Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Zakład Farmacji
Aptecznej

41-200 Sosnowiec
ul. Kasztanowa 3
www.chemklin.sum.edu.pl

KIEROWNIK ZAKŁADU
prof. dr hab. n. farm.
Paweł Olczyk
polczyk@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 269 98 31
fax: (+48 32) 269 98 39

farmacja_apteczna@sum.edu.pl
www.sum.edu.pl



implementacji: modelu uszkodzonych mechanicznie fibroblastów in vitro; modelu zapalenia indukowanego interleukiną 1 β ; oceny przeżywalności komórek [poprzez zastosowanie testu MTT (3-[4,5-dimetylotiazolo-2-yl]-2,5-difenylo) oraz testu NRU (Neutral Red Uptake); analizy potencjału proliferacyjnego komórek (na drodze implementacji testu CyQUANT); oceny ekspresji wybranych molekuł białkowych (w oparciu o wykorzystanie technik: Western Blot oraz mikroskopii konfokalnej); oszacowania aktywności metaloproteina macierzowych (z zastosowaniem techniki elektroforetycznej – zymografii). – *Wyniki badań* zawierające zestawienie, opisanych w dwóch oryginalnych publikacjach efektów naukowo-badawczych dokonań Doktorantki, przedstawiają wyselekcjonowane informacje na temat: – 1. oddziaływania prolidazy na żywotność oraz proliferację fibroblastów; wpływu przedmiotowej metaloproteiny na modyfikację zależnych od receptora naskórkowego czynnika wzrostowego ścieżek sygnałnych; znaczenia oddziaływania omawianej dipeptydazy prolinowej względem ekspresji receptora integrynowego β 1, IGF-1R nie pomijając białek sygnałowych zależnych od wspomnianych receptorów; oddziaływania dyskutowanej imidodipeptydazy w odniesieniu do biosyntezy kolagenu w komórkach poddanych mechanicznemu uszkodzeniu. – 2. wpływu rekombinowanej prolidazy na żywotność oraz proliferację fibroblastów; efektu działania przedmiotowej (rekombinowanej) metaloproteazy na zależny od receptora naskórkowego czynnika wzrostowego szlak sygnałny; oddziaływania omawianej (rekombinowanej) dipeptydazy prolinowej na czynność sygnalizacyjną receptora integrynowego β 1; efektu działania przedmiotowej (rekombinowanej) imidodipeptydazy na migrację fibroblastów oraz na aktywność MMP-2 i MMP-9; efektu działania rekombinowanej prolidazy na biosyntezę białka kolagenowego w fibroblastach oraz w fibroblastach poddanych ekspozycji na Il-1 β (w eksperymentalnych modelu naprawy uszkodzeń tkankowych). – Rozdział „Podsumowanie i dyskusja” stanowi przejaw rzetelnej interpretacji wyników badań. Świadczy on (Rozdział „Podsumowanie i dyskusja”) o dużej wiedzy Doktorantki w zakresie zagadnień, stanowiących przedmiotem Jej poczynąń naukowo-badawczych, potwierdzając jednocześnie umiejętności krytycznej oceny uzyskanych unikalnych rezultatów, zważywszy na ograniczony istotnie zasób danych literaturowych, potencjalnie korespondujących z podjętą, nowatorską problematyką eksperymentalną. – *Wnioski* zaproponowane przez Doktorantkę są wysoce kompatybilne z uzyskanymi rezultatami doświadczalnych poczynąń Pani Magister Weroniki Baszanowskiej, potwierdzając skuteczność i dokładność realizacji zaplanowanych zadań. – *Literatura* licząca 124 pozycje, została w pełni wykorzystana w manuskrypcie. – *Streszczenie* syntetycznie zredagowane zarówno w języku polskim jak i w języku angielskim. – Kopie oryginalnych artykułów naukowych współtworzących unikalny cykl leżący u podstaw przedmiotowej rozprawy doktorskiej. – Zgodę Komisji Bioetycznej, prowadzącej działalność przy

Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku, a umożliwiającej Doktorantce pod Kierunkiem Promotora Rozprawy Pana prof. dr hab. n. farm. Jerzego Pałki na realizację nadrzędnego zadania badawczego (określonego w celu pracy). – Rozdział „Dorobek naukowy” reprezentujący zwieńczenie przedmiotowego Opracowania pełni ponadto podsumowanie imponujących dokonań Doktorantki, obejmując przytoczony już uprzednio *Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską* (wsparty podsumowaniem bibliometrycznym – wartość współczynnika Impact Factor = 11.135, wartość punktacji MEiN = 280); *Wykaz innych publikacji naukowych* nie włączonych do cyklu publikacji (analogicznie uzupełniony o podsumowanie bibliometryczne – wartość współczynnika Impact Factor = 11.135, wartość punktacji MEiN = 280); *Wykaz doniesień zjazdowych* oraz *Wykaz innych aktywności naukowych* (łącznie udział Pani mgr Weroniki Baszanowskiej w projekcie badawczym finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki, kierowanie oraz współwykonawstwo projektów statutowych dotowanych ze środków Uniwersytet Medyczny w Białymstoku wraz z wieńczącym wybitne dokonania Doktorantki Stażem zrealizowanym w Centrum Neuronauki i Biologii Komórki. Uniwersytet w Coimbrze, w Portugalii).

Lektura pracy nasuwa pewne wątpliwości oraz sugestie, które poniżej – nie wątpiąc, iż ważny nie tylko z farmaceutycznego punktu widzenia temat, będzie z pewnością przez Doktorantkę kontynuowany – do przemyślenia przedstawiam:

Doktorantka w sentencji „*W fazie zapalnej indukują one czynniki transkrypcyjne, które ulegają translokacji do jądra, prowadząc do produkcji cytokin prozapalnych, takich jak: czynnik martwicy nowotworu (TNF- α), interleukina-1 β (IL-1 β), interleukina-8 (IL-8) i interleukina-6 (IL-6) [7].*” (Rozdział 3. Wprowadzenie; zdanie nr 14, strona nr. 7) opisuje interleukinę-6 mianem prozapalnej molekuly – tymczasem może ona przejawiać także właściwości przeciwzapalne [Villar-Fincheira P, Sanhueza-Olivares F, Norambuena-Soto I, Cancino-Arenas N, Hernandez-Vargas F, Troncoso R, Gabrielli L, Chiong M. Role of Interleukin-6 in Vascular Health and Disease. *Front Mol Biosci.* 2021 Mar 16; 8: 641734.; Nara H, Watanabe R. Anti-Inflammatory Effect of Muscle-Derived Interleukin-6 and Its Involvement in Lipid Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 13;22(18):9889.];

Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Zakład Farmacji
Aptecznej

41-200 Sosnowiec
ul. Kasztanowa 3
www.chemklin.sum.edu.pl

Stwierdzanie Autorki „*Różne kombinacje tych podjednostek tworzą receptory dla białek ECM np. kolagenów różnych typów, fibronektyny, lamininy, trombospondyny, różnych glikoaminoglikanów i wielu innych.*” (Rozdział 3. Wprowadzenie, 3.3. Enzymatyczna funkcja prolidazy, zdanie nr 4, strona nr. 15) może wprowadzać w błąd bowiem (pomijając fakt, iż *fibronektyna, lamininy czy trombospondyny przynależą do glikoprotein*) glikoaminoglikany to inaczej heteropolisacharydy [Radhouani, H., Correia,

S., Gonçalves, C., Reis, R.L., Oliveira, J.M. (2022). Glycosaminoglycans. In: Oliveira, J.M., Radhouani, H., Reis, R.L. (eds) Polysaccharides of Microbial Origin. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42215-8_12; Hanamatsu H, Makino S, Ohara M, Suda G, Yokota I, Nishihara S, Sakamoto N, Furukawa JI. Simultaneous determination of heparan sulfate, chondroitin/dermatan sulfates, and hyaluronan glycosaminoglycan disaccharides by high-performance liquid chromatography using a reverse-phase column with adamantyl groups. J Chromatogr A. 2023 Jan 25; 1689: 463748.]. Przytoczona sentencja wymaga ponadto doprecyzowania przez Autorkę odnośnie wskazania poszczególnych typów kolagenów oraz klas glikozoaminoglikanów;

Sformułowanie „*Komórki traktowano wstępnie (2 godziny) znany inhibitorem EGFR, gefitynibem (stężenie końcowe: 45 μM).*” (Rozdział 6. Wyniki, 6.1. Ocena wpływu prolidazy (PEPD) zwierzęcej na procesy regeneracyjne w eksperymentalnym modelu uszkodzonych mechanicznie fibroblastów skóry ludzkiej, zdanie nr. 2, strona nr. 30)) również może stanowić źródło wątpliwości/pytań:

1. Autorka posługuje się uproszczeniem – gefitynib bowiem jest w istocie wybiórczym, małocząsteczkowym, inhibitorem kinazy tyrozynowej receptora typu I dla ludzkiego czynnika wzrostu naskórka [<https://rejstrymedyczne.ezdrowie.gov.pl/api/rpl/medicinal-products/39145/characteristic>; <https://podyplomie.pl/wiedza/wielka-interna/752,rak-pecherzyka-zolciowego-i-drog-zolciowych>]
2. Czym Doktorantka kierowała się wybierając: - wspomnianą aktywną substancję farmaceutyczną (gefitynib), wspomniane stężenie końcowe oraz przedział czasowy?

Odnosnie sformułowania „*Zjawisko to zostało potwierdzone w wielu innych badaniach [102-104].*” (Rozdział 7. Podsumowanie i dyskusja, zdanie nr. 4, strona nr. 46)) i „*Stymulujący wpływ EGF na biosyntezę kolagenu potwierdzono w wielu badaniach [105-107].*” (Rozdział 7. Podsumowanie i dyskusja, zdanie nr. 15, strona nr. 47)) poprzez użycie liczebnika nieokreślonego można by spodziewać się „wielu” potwierdzeń literaturowych, zgadzam się jednak z Doktorantką co do wskazywania wybranych jedynie doniesień literaturowych oraz braku konieczności multiplikacji cytowanych w piśmiennictwie artykułów.

Doktorantka w sentencji „*Wiadomo jednak, że stany zapalne prowadzą do utraty wielu GAG*” (Rozdział 7. Podsumowanie i dyskusja, zdanie nr. 10, strona nr. 47), korzysta ze skrótu GAG – jednak wspomniany skrót odnosi się do pojedynczego typu glikozoaminoglikanów – posiłkując się jednak przytoczona częścią mowy (*wielu*) proponuję stosować skrót GAGs. Odnosnie przytoczonej sentencji należałoby ponadto wskazać

Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Zakład Farmacji
Aptecznej

41-200 Sosnowiec
ul. Kasztanowa 3
www.chemklin.sum.edu.pl

KIEROWNIK ZAKŁADU
prof. dr hab. n. farm.
Paweł Olczyk
polczyk@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 269 98 31
fax: (+48 32) 269 98 39

farmacja_apteczna@sum.edu.pl
www.sum.edu.pl



których typów/klas glikoaminoglikanów wspomniana utrata (w przebiegu stanu zapalnego dotyczy) dotyczy – siarczanowanych czy też niesiarczanowanych?

W nawiązaniu do zdania „*Uczestniczą one w rozwoju i utrzymaniu prawidłowej budowy wszystkich narządów poprzez syntezę niezbędnych składników macierzy pozakomórkowej (ECM), zwłaszcza glikozaminoglikanów (GAG) proteoglikanów [8].*” (Rozdział 7. Podsumowanie i dyskusja, zdanie nr. 7, strona nr. 47) proponuję (w miejsce zastosowanego terminu „*glikozaminoglikanów*”) stosowanie nazwy „*glikoaminoglikanów*”.

Odnośnie sformułowania „*PD charakteryzuje się podwyższonym poziomem dipeptydów zawierających prolinę we krwi*” (Rozdział 7. Podsumowanie i dyskusja, zdanie nr. 9, strona nr. 49) i użytego terminu „*poziomem*” proponowałbym (zważywszy, iż Doktorantka odnosi się do krwi) zastosowanie terminu „*stężeniem*”.

Wnioski sformułowane przez Autorkę choć cechują się zgodnością z uzyskanymi wynikami, powinny mieć charakter uogólnień, nie zawierając powtórzenia wyników badań.

Należy zadać pytanie, uwzględniając znaczenie przedstawionej dysertacji, wskazując z niedosytem, dlaczego Doktorantka określając cel pracy nie pokusiła się o określenie wpływu prolidazy na kluczowe względem gojenia ran kolagenu typu I i kolagenu typu III.

Powyzsze uwagi nie umniejszają jednak jakości przedstawionej pracy naukowej a stanowią jedynie wnioski o charakterze rozważań naukowych.

Podsumowując omówiony cykl doświadczeń, współtworzących rozprawę doktorską Pani mgr Weroniki Baszanowskiej, zauważyć należy, iż rezultaty jej wybitnych dokonań naukowych charakteryzują się interdyscyplinarną i użyteczną naturą – stanowią bezpośredni przyczynek do wdrożenia innowacyjnych i zindywidualizowanych algorytmów regeneracyjnych – przedstawiają unikalny wkład do aktualnych trendów w nauk farmaceutycznych i medycznych. Stwierdzam ponadto, iż rozprawa doktorska Pani mgr Weroniki Baszanowskiej, nosząca tytuł: „*Wpływ pozakomórkowej prolidazy na procesy regeneracyjne w eksperymentalnym modelu gojenia ran oraz zapalenia indukowanego IL-1β w fibroblastach skóry ludzkiej*” spełnia wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2022 r., poz. 574 ze zm.). Co nie mniej ważne, innowacyjno-wdrożeniowy charakter uzyskanych rezultatów badawczych poczyniń Doktorantki – znacznie przekraczający typowy charakter dokonań leżących u podstaw rozpraw doktorskich z zakresu nauk medycznych i nauk o zdrowiu – dokonany pod

Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Zakład Farmacji
Aptecznej

41-200 Sosnowiec
ul. Kasztanowa 3
www.chemklin.sum.edu.pl

KIEROWNIK ZAKŁADU
prof. dr hab. n. farm.
Paweł Olczyk
polczyk@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 269 98 31
fax: (+48 32) 269 98 39

farmacja_apteczna@sum.edu.pl
www.sum.edu.pl

opieką Pani dr hab. n. farm. Jerzego Pałki, przedkładam Panu Dziekanowi Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej – prof. dr hab. Wojciechowi Miłtykowi, wniosek o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego – z pełnym przekonaniem wnioskując o wyróżnienie dysertacji.

prof. dr hab. n. farm. Paweł Olczyk