



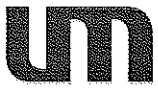
Łódź, 24.10.2016 r.

dr hab. prof. nadzw. Maria Świątkowska
Zakład Cytobiologii i Proteomiki
Katedra Nauk Biomedycznych
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Ocena pracy doktorskiej mgr inż. Edyty Węglowskiej
pt. "Tiofosforanowe analogi nukleotydów–ligandy
receptorów P2Y stymulujące proces gojenia w warunkach
hiperglikemicznych: badania *in vitro*"

Przedstawiona do oceny praca doktorska poświęcona jest analizie aktywności biologicznej tiofosforanowych analogów nukleotydów w aktywacji receptorów nukleotydowych w procesach trudno gojących się ran w chorobie cukrzycowej.

Długotrwała hiperglikemia wywołuje zmiany w funkcjonowaniu komórek śródbłonna naczyniowego oraz zaburzenia w składzie i strukturze macierzy zewnątrzkomórkowej, co prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu naczyń krwionośnych, zmniejszenia ich światła i upośledzenia przepływu krwi. Zmniejszony przepływ krwi w naczyniach obwodowych, dysfunkcja śródbłonna i nieprawidłowa angiogeneza stanowią istotne przyczyny prowadzące do powstawania trudno gojących się ran. Wieloletnia ekspozycja komórek na podwyższone stężenie glukozy prowadzi do przewlekłych powikłań, co stanowi największe zagrożenie dla pacjentów cukrzycowych.



Tematyka przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej dotyczy aktualnych badań prowadzonych nad tą dewastującą chorobą i poszukiwaniu nowych, bardziej efektywnych strategii terapeutycznych.

Recenzowana praca jest obszernym, liczącym 190 stron opracowaniem, zawierającym 91 rycin, 24 tabele oraz pozycje literaturowe, dobrze dobrane z punktu widzenia merytorycznego. Pracę doktorską mgr inż. Edyty Węglowskiej rozpoczyna część teoretyczna, w której omówione zostały receptory związane z białkami G i należące do tej dużej grupy receptorów, receptory nukleotydomowe oraz ich potencjał terapeutyczny. Metody stosowane w pracy zostały opisane w sposób właściwy. Autorka rozprawy posłużyła się zestawem nowoczesnych metod biologii komórki, biologii molekularnej i biochemii. W wyniku przeprowadzonych badań Doktorantka otrzymała szereg interesujących wyników. Badania przeprowadziła na czterech liniach komórkowych wybranych ze względu na ich znaczenie w procesie gojenia się ran tj. pierwotnych komórkach śródbłonna izolowanych z żyły pępowinowej (HUVEC), komórkach śródbłonna naczyń włosowatych skóry (HMEC-1), ludzkich fibroblastach skóry (HDFa) i linii keratynocytów (HaCaT). Doktorantka przeprowadziła analizę ilościową ekspresji genów kodujących receptory nukleotydomowe P2Y i P2X w czterech wybranych liniach komórkowych. Zbadała wpływ nukleotydomów i ich tiofosforanowych pochodnych na przeżywalność i procesy proliferacji komórek badanych linii komórkowych w warunkach hodowli standardowej i w hiperglikemii. Doktorantka dokonała oceny wpływu nukleotydomów i ich tiofosforanowych analogów na angiogenną aktywność fibroblastów i keratynocytów, badając ich efekt na wydzielanie czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF-A) w warunkach standardowych i hiperglikemicznych. Przeanalizowała również aktywność antyoksydacyjną badanych nukleotydomów i ich tiofosforanowych analogów. Otrzymane wyniki badań w zostały dokładnie opisane w rozdziale *Wyniki*.



W mojej opinii do najważniejszych osiągnięć zamieszczonych w prezentowanej dysertacji doktorskiej należą:

1. ocena ilościowa ekspresji receptorów nukleotydowych w czterech badanych liniach komórkowych,
2. identyfikacja antagonistów i agonistów receptora P2Y₁₄,
3. wytypowanie tiofosforanowych analogów nukleotydów, które mogą mieć potencjalne terapeutyczne zastosowanie w przypadku trudno gojących się ran.

W dziale *Dyskusja wyników*, Doktorantka analizuje najważniejsze osiągnięcia swojej pracy i formułuje wnioski zawarte w części *Wnioski końcowe*.

Dyskusja przeprowadzona jest w sposób profesjonalny świadczący o świetnej znajomości tematyki badawczej i umiejętności krytycznego spojrzenia na własne badania.

Biorąc pod uwagę potencjalne wykorzystanie badanych tiofosforanowych analogów nukleotydów nasuwa się pytanie: jaki wpływ na funkcjonowanie płytek krwi mogą mieć analizowane modyfikowane nukleotydy? Prosiłabym także o uzasadnienie dla stosowania w swoich badaniach *in vitro* glukozy w stężeniu 50mM.

Podsumowując, rozprawę doktorską mgr inż. Edyty Węglowskiej oceniam bardzo wysoko ze względu na wagę podjętego tematu, bardzo dobry warsztat metodyczny, staranność w zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń oraz wartość uzyskanych wyników. Opiniowana praca doktorska stanowi oryginalny i znaczący wkład w poszukiwaniu nowych związków mających potencjał terapeutyczny w powikłaniach towarzyszących chorobie cukrzycowej. Uzyskane wyniki mają niepodważalną wartość poznawczą w badaniach nad nowymi związkami



modulującymi funkcjonowanie naczyń krwionośnych, szczególnie w przypadku ich dysfunkcji.

Doktorantka jest współautorką dwóch prac opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym: tj. *Oncotarget* (IF 5,0) oraz *Current Topics in Medicinal Chemistry* (IF 2,9).

Oceniana rozprawa doktorska stanowi samodzielne, oryginalne rozwiązanie przez Doktorantkę problemu badawczego i odpowiada warunkom określonym w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.).

Z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Edyty Węglowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. prof. nadzw. Maria Świątkowska