

Prof. dr hab. Justyn Ochocki
Katedra Chemii Medycznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź
e-mail: justyn.ochocki@umed.lodz.pl

Łódź, 15 maja 2018.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Gęgotek pt.

„Effect of rutin on metabolic changes in skin cells exposed to UVA and UVB radiation”

„Wpływ rutyny na zmiany metaboliczne komórek skóry poddanych ekspozycji na promieniowanie UVA i UVB”

Tematyka rozprawy doktorskiej obejmuje ocenę wielokierunkowych zmian metabolicznych w komórkach skóry poddanych ekspozycji na promieniowanie UVA oraz UVB i ocenę wpływu rutyny na zmiany metaboliczne w komórkach skóry narażonych na promieniowanie UVA i UVB z uwzględnieniem znaczenia właściwości przeciwutleniających rutyny. Rozprawa doktorska poświęcona jest badaniom molekularnych mechanizmów ochronnego działania rutyny (3-O-ramnoglukozyd kwercetyny) związku z grupy flawonoidów. Wyniki badań pokazują że rutyna chroni komórki skóry przed skutkami działania promieniowania UV.

Praca doktorska (12 rozdziałów) składa się z cyklu pięciu monotematycznych prac opublikowanych w czasopismach z listy JCR (Journal Citation Reports). Na podkreślenie zasługuje fakt, że we wszystkich pracach mgr Agnieszka Gęgotek jest pierwszym autorem. Wstęp pracy jest napisany w sposób precyzyjny i logiczny, a cel podjętych badań dobrze uzasadniony. Dyskusja wyników dowodzi dużej dojrzałości naukowej. Dysertację kończą

rozdziały poświęcone jasno sformułowanym wnioskowi i streszczeniu rozprawy. Rozprawa jest przygotowana niezwykle starannie pod względem edytorskim. Zawarty w niej został bardzo szeroki i kompetentny przegląd aktualnej literatury naukowej.

Doktorantka ponadto przedstawiła wykaz 12 prac opublikowanych w czasopiśmie z listy JCR, które nie wchodzi w zakres pracy doktorskiej. Jest pierwszym autorem w pięciu pracach. Sumaryczny Impact Factor wszystkich prac, w których Doktorantka jest współautorem wynosi $IF=59.665$. Jest to wybitny dorobek naukowy. Pani mgr Agnieszka Gęgotek prezentowała wyniki swoich badań w trakcie licznych konferencji w kraju i za granicą. Są to 22 streszczenia konferencyjne. Na czterech konferencjach Autorka przedstawiała wyniki w formie prezentacji ustnej, a na 8 konferencjach jako pierwszy autor w formie plakatów.

Jest kierownikiem aktualnie realizowanego projektu finansowanego przez NCN pt „Ocena współdziałania rutyny i kwasu askorbowego w cytoprotekcyjnym działaniu na fibroblasty i keratynocyty poddane ekspozycji na promieniowanie UVA i UVB”.

Pani mgr Agnieszka Gęgotek w swojej pracy doktorskiej wykonała:

1. Oznaczyła i zinterpretowała parametry stanu redoks komórek skóry. Oznaczyła parametry pro i antyoksydacyjne keratynocytów i fibroblastów poddanych ekspozycji na promieniowanie UVA i UVB.
2. Dokonała analizy zmian w funkcjonowaniu błony komórkowej, które następują po napromieniowaniu UV oraz zaproponowała mechanizm przenikania rutyny do wnętrza komórek;
3. Zbadła właściwości antyoksydacyjne rutyny oraz warunki oddziaływania rutyny z glutationem (GSH) w warunkach stresu oksydacyjnego.
4. Określiła antyoksydacyjny i cytoprotekcyjny wpływ rutyny w zmianach wywołanych promieniowaniem UV w fibroblastach skóry.
5. Przeprowadziła analizę zmian w profilu białkowym komórek ekspozowanych na promieniowanie UVA lub UVB oraz po podaniu rutyny.

6. Dokonała identyfikacji szlaku aktywacji czynnika Nrf2 w warunkach stresu oksydacyjnego w wyniku tworzenia adduktów rutyna-Keap1.

Na podstawie otrzymanych wyników Doktorantka sformułowała następujące wnioski:

1. Promieniowanie UVA oraz UVB prowadzi do zaburzenia równowagi redoks keratynocytów i fibroblastów. Promieniowanie UV wpływa na strukturę i funkcje fosfolipidów błonowych. Zwiększa przepuszczalność błon komórkowych oraz poziom powstających mediatorów lipidowych.

2. Działanie ochronne rutyny na zmiany profilu fosfolipidowego, wywołane przez UV jest ściśle powiązane z przeciwutleniającymi właściwościami rutyny oraz jej zdolnościami do aktywowania szlaku Nrf2/ARE.

3. Promieniowanie UVA i UVB ma stymulujący wpływ na przenikanie rutyny przez warstwę lipidową oraz jej interakcję z elementami błony komórkowej.

4. Zmianom w profilu lipidowym fibroblastów wywołanym przez promieniowanie UV towarzyszą zmiany w proteomie.

Do najważniejszych wyników uzyskanych w pracy zaliczam:

1. W pracy wykazano, że promieniowanie UVB wywołuje silniejsze zmiany w lipidomie i prowadzi do apoptozy, podczas gdy promieniowanie UVA wywołuje najistotniejsze zmiany w proteomie i stymuluje procesy prozapalne.

2. Wykazanie związku odpowiedzi antyoksydacyjnej, procesów zapalnych i apoptotycznych z metabolizmem lipidowym, z uwzględnieniem systemu endokannabinoidowego.

3. Rutyna wykazuje działanie antyoksydacyjne zarówno jako zmiatacz wolnych rodników, ale również jako stymulator systemu antyoksydacyjnego z uwzględnieniem czynnika Nrf2.

4. Rutyna w różnym stopniu wpływa na metabolizm komórek poddanych naświetlaniu, w zależności od typu promieniowania, co wiąże się z różnicami w funkcjonowaniu błony komórkowej fibroblastów poddanych ekspozycji na promieniowanie UVA lub UVB.

5. Rutyna zapobiega oksydacyjnemu metabolizmowi fosfolipidów, obniżając w ten sposób poziom produktów peroksydacji lipidów i stabilizując system endokannabinoidowy, co zapobiega procesom prozapalnym i proapoptotycznym.

Przedstawione wyniki badań pokazują molekularne mechanizmy ochronnego działania rutyny, udowadniając, że rutyna będąca związkami pochodzenia naturalnego chroni komórki skóry przed skutkami działania promieniowania UV.

Wniosek końcowy.

Stwierdzam, że rozprawa pt. „Effect of rutin on metabolic changes in skin cells exposed to UVA and UVB radiation” , „Wpływ rutyny na zmiany metaboliczne komórek skóry poddanych ekspozycji na promieniowanie UVA i UVB” w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i przedkładam wniosek do Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Gęgotek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy.

Just Ocieci,

Prof. dr hab. Justyn Ochocki
Katedra Chemii Medycznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź
e-mail: justyn.ochocki@umed.lodz.pl

Łódź, 31 maja 2018

**Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej
mgr Agnieszki Gęgotek pt.**

„Effect of rutin on metabolic changes in skin cells exposed to UVA and UVB radiation”

„Wpływ rutyny na zmiany metaboliczne komórek skóry poddanych ekspozycji na promieniowanie UVA i UVB”

Rozprawa doktorska zasługuje na wyróżnienie ze względu na nowatorski oraz interdyscyplinarny charakter przeprowadzonych badań. Uzyskane wyniki badań w jednoznaczny sposób udowodniły, że działanie ochronne rutyny na wywołane przez UV zmiany profilu fosfolipidowego, w tym poziom kwasów tłuszczowych i produktów metabolizmu fosfolipidów, jest ściśle powiązane z przeciwutleniającymi właściwościami rutyny oraz jej zdolnościami do aktywowania szlaku Nrf2/ARE, który odpowiedzialny jest za biosyntezę białek antyoksydacyjnych. Badania wykazały ponadto, że promieniowanie UVA i UVB ma stymulujący wpływ na przenikanie rutyny przez warstwę lipidową oraz jej interakcję z elementami błony komórkowej. Przeprowadzone badania mają istotne znaczenie dla precyzyjnego poznania różnych mechanizmów działania rutyny, która jest ważnym reprezentantem aktywnych biologicznie flawonoidów. Wyniki badań zostały opublikowane w postaci 4 oryginalnych prac (IF=18.399) w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym w latach 2015-2017 : Journal of Dermatological Science IF=3.733 (dwie prace), Redox Biology IF=6.337, Oxidative Medicine and Cellular Longevity IF=4.593 oraz pracy przeglądowej w Archives of Dermatological Research, IF=2.146. Sumaryczny Impact Factor opublikowanych prac wynosi 20.545. Praca jest opracowana niezwykle starannie pod względem edytorskim i graficznym.

