



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

Białystok 14.11.2023

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Gabrieli Chyły-Danił
p.t. „Farmakologiczna modyfikacja stężenia czynnika wzrostu śródbłonka naczyń A
(VEGF-A) w przebiegu cukrzycy typu I; potencjalna strategia terapeutyczna ograniczająca
rozwój nefropatii cukrzycowej”**

Rozprawa mgr Gabrieli Chyły-Danił p.t. „Farmakologiczna modyfikacja stężenia czynnika wzrostu śródbłonka naczyń A (VEGF-A) w przebiegu cukrzycy typu I; potencjalna strategia terapeutyczna ograniczająca rozwój nefropatii cukrzycowej” na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk farmaceutycznych ma formę zbioru dwóch spójnych tematycznie pełno-tekstowych publikacji wieloautorskich oraz zawiera wyniki, które w czasie składania rozprawy planowane były do zamieszczenia w trzeciej oryginalnej pracy dotyczącej efektów działania suraminy w długoterminowej cukrzycy indukowanej streptozotocyną. W obu Doktorantka jest pierwszym autorem. Prace opublikowano w latach 2021-2023 w specjalistycznych, recenzowanych czasopismach Pharmacological Reports oraz Pharmaceuticals (Basel) o łącznym współczynniku wpływu IF=9. Kopie prac zamieszczono w dysertacji. Należy wskazać, że trzecia praca pt. „Long-Term Effects of Suramin on Renal Function in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats” zawierająca wyniki badań Doktorantki przedstawione w rozprawie doktorskiej została opublikowana w czasopiśmie IJMS 28 sierpnia 2023. W tej publikacji mgr Gabriela Chyła-Danił jest również pierwszym autorem. Do dokumentacji dołączone są kopie oświadczeń współautorów dotyczące ich udziału w badaniach przedstawionych w publikacjach. Wynika z nich jednoznacznie, że udział mgr Gabrieli Chyły-Danił w ich realizacji był dominujący, obejmował bowiem: opracowanie koncepcji badań, wykonanie części eksperymentalnej, obsługę oprogramowania, walidację



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

metod, analizę formalną, analizę uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu, wizualizację danych, administrowanie projektem oraz pozyskanie finansowania. Promotorem Doktorantki jest specjalista z zakresu chemii klinicznej - profesor Maciej Jankowski.

Część opisową pracy liczącą 61 stron rozpoczyna informacja o źródłach finansowania badań przedstawionych w rozprawie i zgodzie Komisji Bioetycznej. Protokół badań na zwierzętach zatwierdzony został przez Lokalną Komisję Etyczną do spraw doświadczeń na zwierzętach w Bydgoszczy (zgoda numer 44/2019). Badania zawarte w rozprawie sfinansowane zostały z uzyskanych przez Doktorantkę grantów MEiN dla Młodych Naukowców, projektu POWER oraz grantu NCN OPUS kierowanego przez prof. Macieja Jankowskiego. Uzyskanie dwóch grantów badawczych świadczy o dużej dojrzałości naukowej mgr Gabrieli Chyły-Danił.

Kolejne rozdziały stanowi wykaz używanych w rozprawie doktorskiej skrótów oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. W następnym rozdziale Doktorantka wymieniła elementy innowacyjne rozprawy jakimi są wskazanie możliwości zastosowania suraminy jako modulatora metabolizmu VEGF-A i jego receptora, nefroprotekcyjne działanie suraminy w rozwoju nefropatii cukrzycowej oraz poprawę funkcji śródbłonka tętnic w nerkach zwierząt, którym podano suraminę.

Rozdział 7 stanowi Wstęp, w którym Doktorantka w sposób syntetyczny scharakteryzowała cukrzycę, nefropatię cukrzycową, czynnik wzrostu śródbłonka-A, funkcję tego czynnika w cukrzycy, oraz wybrane funkcje biologiczne suraminy. Wstęp zawiera dwie ryciny, które efektownie obrazują omawiane treści. Sposób przygotowania wstępu wskazuje na umiejętność Doktorantki posługiwania się literaturą naukową i jej wykorzystania do tworzenia tez badawczych.

Dramatycznie rosnąca liczba chorych na cukrzycę i związanych z nią powikłań stanowi ogromne wyzwanie epidemiologiczne. Badania nad patomechanizmami, terapią tego schorzenia oraz sposobami leczenia powikłań cukrzycy stanowi jeden z kluczowych kierunków badań biomedycznych. Zaproponowane przez mgr Gabrielę Danił-Chyła badania dotyczące identyfikacji suraminy jako czynnika nefroprotekcyjnego w przebiegu cukrzycy wpisujące się



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

w ten obszar badań uważam za istotne z poznawczego punktu widzenia, a w przyszłości po kolejnych badaniach potencjalnie aplikacyjnego.

W Rozdziale Cel badawczy Doktorantka wskazała jako główny kierunek badania nad zidentyfikowaniem nefroprotekcynowego wpływu suraminy na nerki w cukrzycy oraz określenie mechanizmu tego zjawiska. Rozwinięciem tej tezy jest przedstawienie celów szczegółowych obejmujących ocenę wpływu suraminy w doświadczalnie wywołanej krótko- i długoterminowej cukrzycy na ekspresję VEGF-A, receptorów dla VEGF-A w nerkach, oraz ocenę stężenia VEGF-A we krwi i moczu, funkcji wydalniczej nerek oraz stymulowanego acetylocholiny rozkurczu tętnic wewnątrznerkowych. Zadania wskazane przez Doktorantkę w sposób jasny określają kierunki badawcze.

Jako model badawczy Doktorantka wykorzystwała szczury stada Wistar, u których cukrzycę indukowała streptozotocyną. Skuteczność indukcji hiperglikemii potwierdziła mierząc stężenie glukozy we krwi. Zwierzętom następnie podawała dootrzewnowo suraminę. Protokoły doświadczeń przedstawione są w postaci dwóch rycin - schematów postępowania w grupie krótkoterminowej i długoterminowej. Obrazują one w przejrzysty sposób procedurę przeprowadzenia eksperymentów. Od zwierząt umieszczonych w klatkach metabolicznych pobrano mocz, przeżyciowo krew, a pośmiertnie krew-żylną i tętniczą i nerki do dalszych badań. Jako metody badawcze Doktorantka wykorzystwała standardowe testy diagnostyczne, metody biologii molekularnej, testy immunoenzymatyczne i immunohistochemiczne. Panel metod i badań wykorzystany przez Doktorantkę w mojej ocenie jest prawidłowy i pozwala na pełną realizację zamierzonych celów badawczych. Opis metod jest precyzyjny i nie budzi wątpliwości.

Rozdział jedenasty stanowią Wyniki. Zawierają one bardzo krótką informację o opublikowaniu wyników badań nad efektami działania suraminy w modelu krótkotrwałej cukrzycy indukowanej streptozotocyną oraz szczegółowy opis działania suraminy w modelu cukrzycy długoterminowej. W opinii recenzenta opis uzyskanych wyników w modelu cukrzycy krótkoterminowej i skonfrontowanie ich z danymi z modelu cukrzycy długoterminowej



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

stanowiłyby precyzyjne przedstawienie uzyskanych wyników. Podsumowanie wszystkich badań w postaci tabel z dużą ilością danych nie jest jednoznaczne.

Oryginalnym osiągnięciem z zakresu nauk farmaceutycznych przedstawionym przez mgr Gabrielę Chyłę-Danił w rozprawie doktorskiej jest wykazanie, że suramina może stanowić potencjalny środek farmakologiczny przywracający funkcję naczyń krwionośnych nerek, co może pozwolić na zahamowanie rozwoju nefropatii cukrzycowej. Doktorantka zidentyfikowała wzrost wydalania VEGF-A z moczem zarówno w krótko- jak i długoterminowej cukrzycy. Podanie zwierzętom suraminy w modelu krótkotrwałej cukrzycy wywołało wzrost wydalania oraz zmniejszenie stężenia VEGF-A w kłębuszkach nerkowych do poziomów obserwowanych u zwierząt bez cukrzycy. Takiego efektu nie zaobserwowała w modelu długoterminowej cukrzycy. Interesującą obserwacją Doktorantki jest brak wpływu suraminy na stężenie VEGF-A w surowicy zwierząt w obu modelach doświadczalnych. W celu sprawdzenia funkcjonalności naczyń nerkowych w badanych grupach zwierząt oceniła relaksację zwężonych fenylefryną tętnic międzypłatowych nerek. Stwierdziła znacząco obniżoną zdolność relaksacji międzypłatowych tętnic nerkowych izolowanych od szczurów z krótko- oraz długoterminową cukrzycą w porównaniu do zwierząt kontrolnych. Podanie suraminy zwierzętom z indukowaną cukrzycą przywróciło właściwości relaksacyjne tętnic do poziomu u zwierząt bez cukrzycy. Ponadto, podanie szczurom suraminy doprowadziło do zmniejszenia białkomoczu w trakcie przebiegu długoterminowego modelu cukrzycy. Jako mechanizm nefroprotekcijnego działania suraminy Doktorantka wskazała oddziaływanie na nerkową oś sygnalizacyjną VEGF-A/VEGFR. Oba zastosowane modele cukrzycy pozwoliły Doktorantce potwierdzić nefroprotekcyjne działanie suraminy.

Cztery wnioski w rozdziale Podsumowanie wyników i pięć w rozdziale Wnioski stanowią spójne i syntetyczne podsumowanie przeprowadzonych badań. Wykaz piśmiennictwa cytowanego w rozprawie liczy 127 pozycji, ponadto w pracy numer jeden zacytowano 28 prac, w drugiej – 59. Piśmiennictwo zostało dobrane prawidłowo, odzwierciedla aktualny stan wiedzy w zakresie tematyki doktoratu, a cytowanie dużej ilości



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

najnowszych prac świadczy o dobrej znajomości Doktorantki materiału z zakresu przedmiotu rozprawy.

Edytorska strona pracy nie budzi wątpliwości. Pojedyncze błędy literowe nie wpływają na wartość rozprawy doktorskiej. Moje uwagi nie mają charakteru krytycznego i nie wpływają na ocenę merytoryczną rozprawy. Podsumowując, rozprawę doktorską mgr Gabrieli Chyły-Danił oceniam pozytywnie, uważam, że zrealizowała założone cele badawcze.

Przywilej recenzenta pozwala mi zapytać o plany Doktorantki związane z kontynuacją interesujących badań zawartych w dysertacji.

Rozprawa doktorska mgr Gabrieli Chyły-Danił spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 roku poz. 1789 ze zm.) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dn. 3 lipca 2018 roku Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. Z 2018 r. poz. 1669 ze zm.). Wnoszę do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Gabrieli Chyły-Danił do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dyscyplinie nauk farmaceutycznych.

prof. dr hab. n. farm. Wojciech Miłtyk