

Prof. dr hab. med. Bolesław Rutkowski
Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych
Gdański Uniwersytet Medyczny

OCENA DOROBKU NAUKOWEGO I OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO STANOWIĄCEGO PODSTAWĘ DO
UBIEGANIA SIĘ O STOPIEŃ DOKTORA HABILITOWANEGO DR NAUK BIOL. DOROTY ROGACKIEJ Z ZESPOŁU
KLINICZNO-BADAWCZEGO MOLEKULARNEJ I KOMÓRKOWEJ NEFROLOGII IMDIK PAN W GDAŃSKU

Dorota Rogacka ukończyła studia na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego uzyskując stopień magistra biologii. Bezpośrednio po ich ukończeniu rozpoczęła studia doktoranckie w Katedrze Technologii Leków i Biochemii Politechniki Gdańskiej pod kierunkiem pani Profesor Jolanty Tarasiuk. Prowadzone przez D. Rogacką badania dotyczyły jednego z ważnych problemów w klinicznej onkologii jakim jest oporność wielolekowa nowotworów na stosowane w terapii chemioterapeutyki. Badała zdolność dwóch nowych grup związków: estrów latentnych benzoperymidyny i antrapirydazonów do hamowania eksportu aktywnego i przywracania wewnątrzkomórkowej akumulacji pirarubicyny w komórkach nowotworowych o oporności wielolekowej. Wyniki tych badań stały się podstawą rozprawy doktorskiej pod tytułem „Przywracanie aktywności pirarubicyny w stosunku do komórek nowotworowych o oporności wielolekowej”, którą obroniła na Wydziale Biologii, Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego w 2005 roku uzyskując stopień doktora nauk biologicznych. Należy dodać, że były one prowadzone w ramach grantu promotorskiego KBN a następnie zostały opublikowane w postaci trzech artykułów, które ukazały się w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym zaliczanych do listy filadelfijskiej. W roku 2007 dr Rogacka rozpoczęła pracę w zespole Kliniczno-Badawczym Molekularnej i Komórkowej Nefrologii IMDIK PAN w Gdańsku. Włączyła się w główny nurt badań prowadzonych w tym zespole dotyczących molekularnych podstaw funkcji komórek kłębuszka nerkowego – podocytów - w stanach fizjologicznych i patologicznych np. cukrzycy, oraz czynników endo-/para-/autokrynych regulujących funkcję kłębuszka nerkowego. W latach 2007–2010 pracowała na etacie adiunkta w Zakładzie Immunologii Klinicznej i Transplantologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Była w tym czasie realizatorem projektu badawczego POL POST DOC IU. Od roku 2011 do chwili obecnej pracuje w zespole Kliniczno-Badawczym i kontynuuje oraz rozszerza badania nad insulinoodpornością podocytów w cukrzycy, które stały się następnie podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

Ocena dorobku naukowego

Na dorobek naukowy dr n. biol. Doroty Rogackiej składa się łącznie 24 publikacji oryginalnych. Warto podkreślić, że wszystkie te prace zostały opublikowane w czasopismach zaliczanych do listy filadelfijskiej. Łączny współczynnik oddziaływania tych publikacji IF wynosi 77,777 a według punktacji KBN/ MNiSW równy jest 656 punktów. Zdecydowana większość tych prac (21) ukazała się po uzyskaniu przez dr Rogacką stopnia doktora nauk biologicznych. Jeśli odliczyć cykl publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego to sumaryczny współczynnik oddziaływania wynosi 54,080 a zgodnie z punktacją KBN/ MNiSW równy jest 465. Dodatkowo wyniki badań prowadzonych przez D. Rogacką stały się podstawą 36 doniesień prezentowanych na zjazdach i sympozjach krajowych i międzynarodowych. Jak wspomniano uprzednio badania, w których uczestniczyła D. Rogacka dotyczyły w głównej mierze molekularnych podstaw funkcji komórek kłębuszka, nerkowego – podocytów - w stanach fizjologicznych i patologicznych np. cukrzycy, oraz czynników endo-/para-/autokrynych regulujących funkcję kłębuszka nerkowego. Do zasadniczych osiągnięć zaliczyć należy:

- wykazanie po raz pierwszy, że w hodowli pierwotnej komórek podocytarnych obecna jest zależna od cGMP kinaza białkowa G typu I α (PKG I α), która w podocytach występuje w kolokalizacji z nefryną, co sugeruje, że białko to jest zlokalizowane w błonach szczelinowych. Jednocześnie stwierdzono, iż wspomniany enzym jest cząsteczką wrażliwą na stan oksydoredukcyjny komórki a ważnym czynnikiem regulującym aktywność tego enzymu jest nadtlenek wodoru.
- odkrycie, że insulina zwiększa przepuszczalność warstwy filtracyjnej podocytów oraz izolowanych kłębuszków nerkowych dla albuminy, stymulując produkcję reaktywnych form tlenu, co prowadzi do zmian w wewnątrzkomórkowej lokalizacji PKG I α i aktywacji tego enzymu. Pozwoliło to na wykazanie istnienia zależności pomiędzy generowanym w cukrzycy stresem oksydacyjnym, aktywacją PKG I α , reorganizacją cytoszkieletu aktynowego oraz zmianami w przepuszczalności bariery filtracyjnej podocytów.
- wykazanie, że w mechanizmie zależnego od insuliny procesu regulacji przepuszczalności warstwy filtracyjnej podocytów dla albuminy zaangażowane są białka regulujące wewnątrzkomórkowy poziom jonów wapnia.
- stwierdzenie że pod wpływem insuliny w podocytach dochodzi do wzrostu ekspresji genów kodujących markery autofagii: Atg5 i LC3, co sugeruje, że hormon ten wpływa na aktywność procesu autofagii na etapie dojrzewania pęcherzyków autofagosomalnych. Jednocześnie wykazano, że stymulacja autofagii pod wpływem insuliny zależy od poziomu produkcji reaktywnych form tlenu.

Należy podkreślić, że prowadzone przez dr D. Rogacką badania były realizowane dzięki przyznanym grantom naukowym. Łącznie dr Rogacka była kierownikiem pięciu grantów a w sześciu kolejnych projektach uczestniczyła jako główny wykonawca.

Cykl publikacji poświęconych badaniom nad mechanizmami indukcji insulinooporności komórek podocytowych kłębuszka nerkowego zostanie omówiony w dalszej części oceny poświęconej osiągnięciu naukowemu. Podsumowując uważam, że przedhabilitacyjny dorobek naukowy dr nauk biologicznych Doroty Rogackiej stanowi wartościowy wkład poszerzający wiedzę na temat molekularnych podstaw zjawisk zachodzących w kłębuszku nerkowym w stanach fizjologii i patofizjologii. Pozwalają one na lepsze zrozumienie procesów prowadzących do przepuszczalności błony filtracyjnej kłębuszka nerkowego dla albuminy. Mogą zatem stanowić klucz do patogenezy szeregu glomerulopatii, w tym przede wszystkim nefropatii cukrzycowej. Warto podkreślić raz jeszcze, że wszystkie publikacje będące następstwem analizowanych badań zostały opublikowane w znanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Warto wymienić niektóre z nich: *BBA - Molecular Basis of Disease*, *International Journal of Biochemistry & Cell*, *American Journal of Physiology*, *Renal Physiology*, *FEBS Letters*, *Journal of Cellular Physiology* czy też *Experimental Cell Research*. Omówiony powyżej dorobek naukowy w pełni upoważnia do starań do otwarcia przewodu habilitacyjnego.

Ocena osiągnięcia naukowego zatytułowanego „Potencjalne mechanizmy indukcji insulinooporności komórek podocytnych kłębuszka nerkowego”

Przedstawiona do oceny osiągnięcie naukowe składa się z pięciu publikacji, które ukazały się w latach 2010–2015 w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, takich jak *Journal of Cellular Physiology*, *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* czy też *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Łączna wartość wskaźników bibliometrycznych tych publikacji to: IF = 16,579 a według klasyfikacji KBN/ MNiSW = 149 punktów. W trzech z omawianych publikacji dr Rogacka jest pierwszym a w pozostałych dwóch drugim autorem. Dodatkowo dr Rogacka przedstawiła omówienie tych publikacji w języku polskim i angielskim. Analiza przedstawionego materiału pozwala na stwierdzenie, iż posiada on dużą wartość merytoryczną pozwalającą na przybliżenie mechanizmów, które leżą u podstaw rozwoju nefropatii cukrzycowej. Znajduje ona swój wyraz przede wszystkim w następujących osiągnięciach:

1. Opracowanie i konsekwentne realizowanie hipotezy roboczej, której główne założenia oparte były na doświadczalnym stwierdzeniu, że długotrwała ekspozycja podocytów na wysokie stężenie glukozy prowadzi do rozwoju insulinooporności tych komórek. Powoduje to zniesienie stymulującego działania insuliny na dokomórkowy transport glukozy a w następstwie tych zmian dochodzi do wzrostu przepuszczalności warstw filtracyjnych dla albuminy.
2. Zaplanowanie i przeprowadzenie kolejnych serii modeli doświadczalnych pozwalających na wykazanie, iż u podłoża insulinooporności podocytów w warunkach wysokiego stężenia glukozy leżą:

- a) zmniejszenie aktywności głównego czujnika stanu energetycznego komórki, jakim jest serynowo-treoninowa kinaza białkowa AMPK. Obecność obu izoform AMPK w podocytach została potwierdzona w jednej z serii doświadczeń wchodzących w skład omawianego osiągnięcia naukowego
 - b) redukcja białka i aktywności enzymatycznej deacetylazy SIRT1
 - c) wzrost przepływu substratów przez szlak biosyntezy heksozaminy prowadzący do podwyższenia poziomu o-glikozylowanych białek komórkowych
3. Stwierdzenie, że zmiany aktywności kluczowego enzymu - AMPK podczas długotrwałego okresu hiperglikemii mogą być następstwem stresu oksydacyjnego
 4. Wykazanie, iż metformina hamuje produkcję wolnych rodników tlenu w podocytach poprzez redukcję aktywności NAD(P)H-oksydazy zarówno w stanie normoglikemii, jak też hiperglikemii.

Podsumowując należy stwierdzić, że wyniki przeprowadzonych badań w sposób istotny pozwalają zrozumieć mechanizmy biorące udział w rozwoju insulinooporności komórek podocytarnych kłębuszka nerkowego w warunkach towarzyszącej hiperglikemii. Stanowią one zatem dobry punkt wyjścia do dalszych badań nad patogenezą nefropatii cukrzycowej a także stwarzają możliwości opracowania metod zapobiegania uszkodzeniu kłębuszka nerkowego w przebiegu cukrzycy. Oceniane osiągnięcie naukowe w głównej mierze posiada walory poznawcze, chociaż nie można wykluczyć w przyszłości ich znaczenia praktycznego. Jeszcze raz należy podkreślić aktualność tematyki i konsekwentne przeprowadzenie szerokiego programu badań przy pomocy nowoczesnych metod. Zdaniem recenzenta przedstawiona przez dr n. biol. Dorotę Rogacką osiągnięcie naukowe w pełni upoważnia do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Wniosek końcowy:

Na podstawie przeprowadzonej oceny dorobku naukowego oraz osiągnięcia naukowego dr n. biol. Doroty Rogackiej stwierdzam, że odpowiadają one w pełni warunkom stawianym przy ubieganiu się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie biologii medycznej.

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Naukowej IMDiK PAN im. Mirosława Mossakowskiego w Warszawie o dopuszczenie dr n. biol. Doroty Rogackiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. med. Bolesław Rutkowski

