GDAŃSKI
UNIWERSYTET
MEDYCZNY

www.gumed.edu.pl
58 349 11 11
info@gumed.edu.pl
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a,
80-210 Gdańsk

Recenzje pozytywne
Wniosek o dopuszczenie

Prodziekan
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki
prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska

# RECENZJA

**Rozprawy doktorskiej mgr Joanny Bogusiewicz**

**pt.: *„Analiza lipidomiczna w diagnostyce guzów mózgu”***

**wykonanej w Collegium Medicum w Bydgoszczy,**

**Unwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

**pod kierunkiem dr hab. Barbary Bojko, prof. UMK**

**Informacje dotyczące pracy doktorskiej i dorobku naukowego mgr Joanny Bogusiewicz**

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została zrealizowana w Katedrze Farmakodynamiki i Farmakologii Molekularnej Collegium Medicum w Bydgoszczy we współpracy z kliniką Neurochirurgii 10 Wojskowego Szpitala klinicznego z Polikliniką w Bydgoszczy pod kierunkiem dr hab. Barbary Bojko, prof. UMK. Podstawowa część pracy to cykl trzech artykułów naukowych przedstawiających wyniki badań oryginalnych, stanowiących osiągnięcie naukowe, które zebrane są pod wspólnym tytułem rozprawy doktorskiej. Cykl ten uzupełniony jest o wstęp, zawierający merytoryczny opis problematyki badawczej, dobrze wprowadzający czytelnika w zagadnienia związane z głównym celem dysertacji. Cykl artykułów umieszczony w pracy poprzedzony jest streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz bardzo przydatnym wykazem skrótów. Praca opatrzona jest także rozdziałem z zebranymi wnioskami wynikającymi z badań oraz rozdziałem opisującym wkład wyników w rozwój nauki oraz ich możliwości aplikacyjne. Przytoczone piśmiennictwo składa się z 73 pozycji, w zdecydowanej większości opublikowanych w ciągu ostatnich pięciu lat.

Dorobek naukowy Doktorantki podany w drugiej części pracy jest imponujący jak na młodego pracownika nauki z sumarycznym współczynnikiem oddziaływania ponad 60 pkt. Do czasu pisania recenzji ilość prac oryginalnych ujętych w bazie JCR zwiększyła się z 14 do 17,

GDAŃSKI
UNIWERSYTET
MEDYCZNY

www.gumed.edu.pl
58 349 11 11
info@gumed.edu.pl
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a,
80-210 Gdańsk

indeks Hirsha wynosi 6, a ilość cytacji zarówno w bazie *Web of Science* jak i w bazie *Scopus* przekracza wartość 200. W większości z tych prac mgr Joanna Bogusiewicz jest pierwszym autorem. Doktorantka brała także aktywny udział w konferencjach zagranicznych udokumentowanych 6 doniesieniami i 8 w ramach konferencji krajowych. Podkreślenia wymaga fakt odbycia przez Doktorantkę w roku 2018 i 2019 staży w University of Waterloo w Kanadzie w zespole światowej sławy twórcy techniki mikroekstrakcji do fazy stałej, prof. Janusza Pawliszyna. Wyniki badań były nagradzane na konferencjach analitycznych i metabolomicznych jak również przez Rektora UMK. Mgr Joanna Bogusiewicz została również dostrzeżona przez edytorów czasopism z bazy JCR jako recenzent manuskryptów naukowych.

Do pracy załączone zostały zgody Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum oraz oświadczenia o współautorstwie artykułów wchodzących w skład cyklu publikacji naukowych.

**Praca doktorska – wymagania formalne**

Dysertacja mgr Joanny Bogusiewicz obejmuje 3 oryginalne publikacje naukowe opatrzone krótkim opracowaniem autorskim. Artykuły te opublikowane były w czasopismach naukowych o bardzo wysokim współczynniku oddziaływania jak na analityczną dziedzinę nauki, przy sumarycznym współczynniku oddziaływania wynoszącym 16,132. Są to: *International Journal of Molecular Sciences*, *Molecules* oraz *Scientific Reports*. Prace wchodzące w skład rozprawy były cytowane według bazy *Web of Science* 19 razy, co biorąc pod uwagę 2021 i 2022 rok publikacji świadczy o bardzo dużym zainteresowaniu naukowców tematyką badawczą Doktorantki i Współautorów. Przytoczone wskaźniki dowodzą wysokiego poziomu zaprezentowanych prac naukowych stanowiących podstawę postepowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Z analizy oświadczeń o współautorstwie wynika, że wkład Doktorantki w powstanie prac był wiodący i obejmował przeprowadzenie analiz laboratoryjnych, opracowanie i interpretację wyników, jak również przygotowanie finalnej formy manuskryptu. W jednej z prac wkład Doktorantki polegał na opracowaniu koncepcji i planowania eksperymentów.

GDAŃSKI
UNIWERSYTET
MEDYCZNY

www.gumed.edu.pl
58 349 11 11
info@gumed.edu.pl
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a,
80-210 Gdańsk

**Ocena merytoryczna pracy doktorskiej**

Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego to grupa chorób o zróżnicowanej charakterystyce klinicznej i histologicznej, do których zaliczają się nowotwory pierwotne jak glejaki, oponiaki, gruczolaki przysadki czy chłoniaki. Wśród guzów pierwotnych glejak wielopostaciowy jest najbardziej agresywnym i złośliwym guzem mózgu i pomimo ogromnych postępów w dziedzinie onkologii wyniki leczenia są nadal niezadowalające z medianą przeżycia około 12 miesięcy od rozpoznania. W komórkach nowotworowych dochodzi do zwiększonej lipogenezy, co również zostało zaobserwowane w glejakach. Komórki te wykorzystują m.in. egzogenne kwasy tłuszczowe do wzrostu i syntezy nowopowstających lipidów w zmianie nowotworowej. Przy czym rola w tworzeniu i progresji guzów mózgu jest nadal niejasna. Poznanie kluczowych związków tłuszczowych odpowiedzianych za przeprogramowanie metabolizmu lipidów w OUN jest niezwykle trudnym zadaniem, ale również nadzieją na opracowanie skuteczniejszej diagnostyki i terapii złośliwych guzów mózgu. Standardem w leczeniu glejaka wielopostaciowego pozostaje nadal leczenie chirurgiczne, natomiast różnicowanie tkanki nowotworowej i zdrowej w trakcie zabiegu neurochirurgicznego pozostaje ogromnym wyzwaniem. Przy czym prowadzone są obecnie liczne badania, które dzięki wykorzystaniu coraz doskonalszych i wysublimowanych narzędzi analitycznych i statystycznych urealniają zastosowanie tego typu diagnostyki w trakcie zabiegów chirurgii onkologicznej.

W związku z tym badania wykonane w ramach pracy doktorskiej Pani mgr Joanny Bogusiewicz są nad wyraz aktualne i włączone w bardzo intensywne poszukiwania skutecznych i możliwie precyzyjnych rozwiązań w diagnostyce onkologicznej, prowadzone przez najlepsze ośrodki badawcze na świecie.

Uważam, że zakres prac badawczych wykonanych i opisanych w rozprawie przez Doktorantkę, nie tylko spełnia, ale nawet przekracza zwyczajowe wymagania stawiane wobec kandydatów do stopnia naukowego doktora. W **pierwszej pracy** poddano ocenie użyteczność biopsji chemicznej w postaci sond SPME w lipidomicznej analizie *ex vivo* guzów mózgu. W pracy tej Doktorantka dowiodła, że zastosowanie sond biopsyjnych SPME z oktadecylowym

GDAŃSKI
UNIWERSYTET
MEDYCZNY

www.gumed.edu.pl
58 349 11 11
info@gumed.edu.pl
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a,
80-210 Gdańsk

złożem sorpcyjnym w powiązaniu z techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z wysokorozdzielczą spektrometrią mas, może stać się pomocnym narzędziem diagnostycznym do rozróżniania guzów mózgu w oparciu o analizy lipidomiczne. Ponadto, w tej części rozprawy Doktorantka wykazała, że to podejście bioanalityczne może również być przydatne do rozróżniania guzów w zależności od stopnia ich złośliwości. Wyniki korelowały także ze statusem mutacji w genie kodującym IDH1/2, co z kolei umożliwiło, dzięki zastosowaniu badań chemometrycznych, wyselekcjonowanie 16 potencjalnych lipidów, które ułatwiać mogą różnicowanie glejaków w zależności od statusu tejże mutacji.

Opisane lipidomiczne podejście niecelowane, zostało w **drugiej pracy** przetestowane do profilowania acylokarnityn, grupy związków przeplatających główne ścieżki biochemiczne konieczne do rozwoju komórek rakowych. Różnice w poziomach karnityn mogą być pomocne do wczesnej diagnostyki np. raka wątrobowokomórkowego. W tej pracy Doktorantka dowiodła, że za pomocą proponowanej sondy SPME można stwierdzić w glejakach różny poziom związków karnitynowych w zależności od ich stopnia złośliwości oraz w zależności od obecności mutacji w obrębie genu dla IDH1/2.

**Trzecia praca** jest niewątpliwie niezwykłym osiągnięciem. W pracy tej przeprowadzono analizy *in vivo* u pacjentów w trakcie pobierania biopsji mózgu z użyciem testowanych wcześniej *ex vivo* sond SPME. Praca ta dowodzi, że biopsja chemiczna wykorzystująca sondy SPME *in vivo* na mózgu człowieka jest osiągalna i otwiera ścieżki kolejnych badań, które w perspektywie prowadzą do wprowadzenia tego typu diagnostyki na salę operacyjną.

Wszystkie trzy prace są pracami wieloautorskimi, ale jeszcze raz chcę podkreślić, że we wszystkich trzech publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, co dowodzi Jej roli w badaniach i powstaniu artykułów naukowych.

W obowiązku recenzenta leży przedstawienie uwag, które w tym wypadku raczej służyć mogą dyskusji niż krytyce.

GDAŃSKI
UNIWERSYTET
MEDYCZNY

www.gumed.edu.pl
58 349 11 11
info@gumed.edu.pl
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a
80-210 Gdańsk

1. Szczególnie w drugiej i trzeciej pracy ilość włączonych do badań pacjentów jest stosunkowo niewielka, co, trzeba zauważyć, zostało już w dyskusji wyników w artykułach nakreślone. Innymi słowy, przedstawione wyniki będą potwierdzane przez kolejne badania z włączeniem większej grupy chorych jak też z wykorzystaniem innych narzędzi analitycznych.

2. W jaki sposób przygotowywane były próbki kontrolne do badań lipidomicznych, które miałyby za zadanie kontrolować stabilność procesu analitycznego? Szkoda, że na wykresach PCA nie zostały one umieszczone aby można było wizualnie ocenić stopień grupowania próbek QCs. Gdy nie tworzą one klastra w przestrzeni wyznaczonej przez główne składowe to zakłada się wysoką zmienność analityczną oznaczeń. Wówczas grupowanie próbek badanych może wynikać ze zmienności analitycznej a nie biologicznej.

3. Dodatkowo, w jaki sposób były przygotowywane tzw. próbki *blank extraction* i *blank* w kierunku odjęcia tła matrycy. Z doświadczenia analiz niecelowanych wynika, że tło pochodzące z rozpuszczalnika oraz matrycy przypominającej badaną tkankę może generować znaczą ilość sygnałów analitycznych- które i) powodować mogą supresję analitów ii) mogą zmniejszać czułość oznaczeń oraz mogą wpływać na niepowtarzalność pomiarów między próbkami. Prosiłabym o dyskusję w tej kwestii.

4. Istotność statystyczną wskazanych różnicujących próbki lipidów warto byłoby określić biorąc pod uwagę korektę istotności statystycznej, minimalizującą ryzyko wystąpienia wyników fałszywie dodatnich (ang. *False Discovery Rate*, FDR), stosując np. korektę Benjamini-Hochberga ($pBH<0,05$) czy Bonferonniego ($pB<0,05$)? Czy były podjęte takie próby?

5. W jaki sposób prowadzona była w trakcie analiz z użyciem spektrometru mas korekta pomiaru masy (*mass error*)?

6. Czy rozważane było w pracy potwierdzenie identyfikacji związków istotnie statystycznie różnicujących grupy badanych próbek poprzez analizę standardów?

GDAŃSKI
UNIWERSYTET
MEDYCZNY

www.gumed.edu.pl
58 349 11 11
info@gumed.edu.pl
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a,
80-210 Gdańsk

7. Praca napisana jest poprawnym i starannym językiem, choć przyznać należy, że nie udało się Doktorantce ustrzec przed ominięciem potknięć edytorskich, które wynikają najprawdopodobniej z wszechobecnego pośpiechu.

Wymienione wyżej drobne uchybienia czy uwagi nie obniżają mojej bardzo wysokiej oceny rozprawy doktorskiej autorstwa mgr Joanny Bogusiewicz, która stanowi opracowanie wartościowe zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia. Należy podkreślić, że mgr Joanna Bogusiewicz w pełni zrealizowała cele pracy, wykorzystując najnowocześniejsze techniki analityczne w obszarze diagnostycznym. Przedstawiona rozprawa świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki, potencjał do rozwiązywania problemów praktycznych oraz wskazuje na jej znakomite przygotowanie do samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Stwierdzam, że przedłożona do oceny dysertacja w pełni odpowiada warunkom formalnym i merytorycznym stawianym rozprawom doktorskim zawartym w Ustawie z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Joanny Bogusiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie, ze względu na oryginalne podejście naukowe, wysoki sumaryczny współczynnik oddziaływania wynikający z opublikowania wyników pracy w czasopismach naukowych o ogólnoświatowym zasięgu, ich prezentacji na międzynarodowych konferencjach naukowych wnioskuję do Rady Naukowej o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Joanny Bogusiewicz zgodnie z przyjętymi w Collegium Medicum w Bydgoszczy kryteriami wyróżniania rozpraw doktorskich.

Gdańsk, 18 czerwca 2023r.

PODPIS ZAUFANY
DANUTA
SILUK
18.06.2023 17:03:33 (GMT+2)
Dokument podpisany elektronicznie podpisem zaufanym

KATEDRA BIOFARMACJI I FARMAKODYNAMIKI
ul. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk | 58 764 14 93 | danuta.siluk@gumed.edu.pl