

prof.dr hab.n.med. Krystyna Olczyk
Katedra i Zakład Chemii Klinicznej
i Diagnostyki Laboratoryjnej
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu

Recenzja pracy
Wnioskuję o wypiszenie
M. Bojko

Recenzja

rozprawy doktorskiej pt. „Analiza lipidomiczna w diagnostyce guzów mózgu”, wykonanej przez Panią mgr Joannę Martę Bogusiewicz, pod kierunkiem Promotora – Pani dr hab. Barbary Bojko, prof. UMK.

Pierwotne guzy mózgu stanowią około 2% zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce, zaś średnia zapadalność na te schorzenia wynosi około 3 tysiące rocznie. Nowotwory mózgu są istotną przyczyną zachorowalności i umieralności, zarówno dorosłych jak i dzieci, stąd też ich diagnostyka stanowi znaczące wyzwanie współczesnych nauk biomedycznych. Wprowadzenie do praktyki klinicznej badań obrazowych, takich jak tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny, tomografia komputerowa pojedynczego fotonu oraz pozytronowa tomografia komputerowa, stało się przełomem w rozpoznawaniu i różnicowaniu guzów mózgu, pozwalając m.in. na ocenę charakteru, unaczynienia i metabolizmu badanej zmiany nowotworowej. Jednak, następujące po zastosowaniu wspomnianych metod obrazowania, usunięcie zmiany nowotworowej – jako jedno z kluczowych etapów schematu terapeutycznego, a związane z eliminacją zmienionej tkanki wraz z bezpiecznym marginesem tkanki zdrowej, niesie za sobą potencjalne ryzyko upośledzenia funkcji życiowych pacjenta. Zagrożenie to stało się podstawą poszukiwania metod umożliwiających dokładne, specyficzne i czułe zróżnicowanie tkanek nowotworowych z nienowotworowymi, a jednocześnie – umożliwiających klasyfikację guza, jeszcze w trakcie zabiegu operacyjnego. Postęp nauk biomedycznych pozwolił na opracowanie szeregu metod, opartych na zjawiskach fizykochemicznych, i pozwalających na szybkie różnicowanie tkanki nowotworowej i prawidłowej, a także – na profilowanie guzów mózgu. Jednym z takich obiecujących rozwiązań jest mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME – *solid phase microextraction*), określana także mianem biopsji chemicznej. Zagadnienia te stanowiły przedmiot szeregu badań Promotora niniejszej rozprawy – Pani dr hab. Barbary Bojko, prof. UMK, przy współudziale w wielu z nich Doktorantki – Pani mgr Joanny Marty Bogusiewicz. Osiągnięcia te opisane zostały na łamach licznych, prestiżowych, o międzynarodowym zasięgu publikacji, zaś niektóre z ich stały się podstawą niniejszej dysertacji. Dlatego też wybór tematu pracy doktorskiej, będącego rozwinięciem wyżej przedstawionej problematyki badawczej, realizowanej z sukcesem od lat pod kierunkiem Pani dr hab. Barbary Bojko, prof. UMK, uważam za trafny, zgodny z aktualnym stanem wiedzy i kierunkiem współczesnych badań biomedycznych.

Ocenianą rozprawę doktorską stanowią trzy, powiązane tematycznie publikacje oryginalne, zamieszczone na łamach renomowanych, znajdujących się na tzw. Liście filadelfijskiej czasopism, takich jak *International Journal of Molecular Sciences* (IF = 6,208), *Molecules* (IF = 4, 927) oraz *Scientific Reports* (IF = 4,997). Doktorantka jest pierwszym Autorem tych prac.

Zbiór omawianych publikacji opatrzony jest Opracowaniem, na które składają się *Streszczenie* – w języku polskim i angielskim; - *Wstęp* – wprowadzający czytelnika w zagadnienia dotyczące klasyfikacji guzów mózgu, mutacji w genie kodującym dehydrogenazę izocytrynianową, kodelecji 1p/19q, diagnostyki, w tym – nowoczesnych technik diagnostyki, i leczenia guzów mózgu,

mikroekstrakcji do fazy stałej – tzw. biopsji chemicznej, zagadnień lipidomiki oraz podziału i roli lipidów, lipidomu komórek nowotworowych, przygotowania próbek do analizy lipidomicznej oraz platform analitycznych do wspomnianej analizy; *Cel rozprawy doktorskiej* – przekonująco uzasadniający wybór podjętych zadań badawczych; *Wyniki badań* – zawierające zwarte zestawienie opisanych w kolejnych publikacjach efektów badań; *Wnioski* – korespondujące z nakreślonymi wcześniej zadaniami badawczymi i potwierdzające zasadność wybranego celu pracy; - rozdział pn. *Wkład wyników w rozwój nauki, możliwości aplikacyjne* – wskazujący na potencjalne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników; i ostatni rozdział – *Piśmiennictwo*, dotyczące zagadnień omówionych we wcześniej wymienionych rozdziałach Opracowania. Rozdziały te, towarzyszące trzem publikacjom, stanowiącym istotę pracy doktorskiej, pozwalają na wdrożenie się czytającego do przedstawionej problematyki prac, opartych na nowoczesnym i różnorodnym układzie doświadczalnym, który w swej złożoności umożliwił realizację zamierzeń badawczych.

Doktorantka zamieściła ponadto w Opracowaniu informacje na temat swoich osiągnięć naukowych, wśród których na podkreślenie zasługuje imponująca wartość wskaźnika *impact factor*, a wynosząca łącznie 60,856, oraz sumaryczna punktacja ministerialna: 1290. Zwraca uwagę także liczba publikacji: 12 – w języku angielskim, 2 – w języku polskim, oraz liczba publikacji, w których Doktorantka jest pierwszym Autorem, wynosząca (wg informacji w tekście pracy) 6, (jakkolwiek doliczyłam się liczby: 5) Ponadto, Doktorantka wymienia wartość indeksu Hirscha (wynoszącą w zależności od Bazy) od 5 – 7, także i liczbę cytowań, wynoszącą (w zależności od Bazy) od 176 – 269 (choć nie wymieniono liczby autocytowań). Na doniesienia konferencyjne, przedstawione przez Doktorantkę przypada liczba 14 (8 krajowych, 6 zagranicznych), zaś na te, w których Doktorantka jest Współautorem, przypada liczba 22 (13 krajowych, 9 zagranicznych). Podkreślenia wymaga także fakt uczestnictwa Doktorantki w 5 grantach naukowych, spośród których we dwóch pełniła funkcję Kierownika (Grant NCN – *Preludium*; Grant uczelniany), zaś w trzech – funkcję Wykonawcy (Grant uczelniany – *KUBUS 2.0*; Grant Ministerstwa Obrony Narodowej – *Kościuszko*; Grant NCN – *Harmonia 7*). Wyrazem Jej aktywności naukowej były ponadto dwa, krótkoterminowe staże zagraniczne na Uniwersytecie w Waterloo, w Kanadzie. Doktorantka zamieściła także wykaz nagród, jakimi została uhonorowana, począwszy od nagród uczelnianych (6), poprzez stypendia wyjazdowe (3), nagrody za prezentacje posterów konferencyjnych (2) i nagrody przyznane przez inne, pozauczelniane instytucje (3). Ponadto, zamieściła informację na temat swojego członkostwa w zagranicznych towarzystwach naukowych (3), recenzowania artykułów zagranicznych czasopism (8), oraz funkcji instruktora w lokalnych, naukowych projektach (2).

W Opracowaniu znajdują się także kopie opinii wydanych przez Komisję Bioetyczną, a ponadto – Oświadczenia Współautorów trzech publikacji na temat zakresu współautorstwa w wymienionych pracach.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż oceniana rozprawa doktorska została zrealizowana dzięki wsparciu finansowemu, zapewnionemu przez Grant NCN, pn. *Harmonia 7* oraz Grant pozyskany z Ministerstwa Obrony Narodowej, pn. *Kościuszko*.

Przedmiotem prac, składających się na cykl stanowiący dysertację doktorską są badania, których celem było przetestowanie możliwości zastosowania sond SPME w analizie guzów mózgu, ocena profilu lipidomicznego glikolików w zależności od stopnia złośliwości, jak i od obecności zmian w genie dehydrogenazy izocytrynianowej i występowania kodelecji 1p/19q, a ponadto – ocena możliwości zastosowania biopsji chemicznej (metody SPME) w badaniach mózgu u chorych w trakcie zabiegów operacyjnych.

Dla realizacji tego ambitnego celu pracy, Doktorantka podjęła szereg zadań badawczych, na wykonanie których uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej, z siedzibą w UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, a obejmujących: **1.** Ocenę przydatności biopsji chemicznej w analizie profili lipidomicznych guzów mózgu, pod kątem stopnia ich złośliwości, statusu mutacji w genie kodującym dehydrogenazę izocytrynianową 1/2, (izoformę IDH1 – zlokalizowaną w cytoplazmie i peroksosomach, oraz IDH 2 – zlokalizowaną w macierzy mitochondrialnej), i obecności kodelecji 1p/19q, a ponadto – ocenę użyteczności zaproponowanej platformy analitycznej w różnicowaniu histologicznie różnych guzów: oponiaków i glejaków, z wykorzystaniem chromatografii cieczowej, połączonej z wysokorozdzielczą spektrometrią mas (LC-HRMS); **2.** Ocenę zmian w profilu acylokarnityn w glejakach o różnym stopniu złośliwości i genotypie, z wykorzystaniem danych uzyskanych z niecelowanej analizy lipidomicznej glejaków za pomocą platformy SPME-LC-HRMS; **3.** Ocenę zastosowania *in vivo* biopsji chemicznej w badaniach mózgu człowieka, przy zastosowaniu modyfikacji sondy SPME, wymuszonej koniecznością osiągnięcia kompromisu pomiędzy potrzebami analitycznymi, a użytecznością sondy zastosowanej w trakcie zabiegu operacyjnego. Należy zaznaczyć, iż badania będące przedmiotem pracy realizowane były we współpracy z Kliniką Neurochirurgii 10 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką w Bydgoszczy, Kliniką Neurochirurgii i Neurologii Szpitala Uniwersyteckiego nr 2 im. Jana Biziela w Bydgoszczy, Uniwersytetem w Waterloo w Kanadzie, Katedrą Chemii Nieorganicznej i Analitycznej macierzystego Wydziału CM w Bydgoszczy.

Doktorantka wykazała, iż: - zastosowanie biopsji chemicznej w analizie guzów mózgu umożliwia ujawnienie odmienności profili lipidomicznych niezłośliwych oponiaków od tych, cechujących złośliwe glejaki; - lipidom guzów mózgu zmienia się w zależności od stopnia ich złośliwości oraz statusu mutacji dla genu kodującego dehydrogenazę izocytrynianową; - zawartość estrów karnityny w tkance nowotworowej wzrasta w guzach o wyższym stopniu złośliwości, czyli tych o gorszym rokowaniu klinicznym i w zmianach nowotworowych, w których nie występują mutacje w genie IDH; - biopsja chemiczna może być użyteczna w badaniach mózgu *in vivo*. To ostatnie odkrycie jest wynikiem pionierskich badań, wskazujących potencjalną przydatność zastosowanej sondy SPME w warunkach śródoperacyjnych.

Przeprowadzone badania pozwoliły na zrealizowanie założonego celu pracy. Wyrazem ich nowatorskiego charakteru i naukowej wartości było ich opublikowanie w renomowanych czasopismach, poprzedzone szczegółową oceną międzynarodowego zespołu Recenzentów, gwarantującą wysoki poziom naukowy i oryginalność publikowanych przez te czasopisma prac.

Lektura pracy nasuwa – jak zawsze – pewne uwagi czy sugestie, być może warte zastanowienia, zważywszy, że tak ważny z medycznego punktu widzenia temat badawczy będzie z pewnością kontynuowany:

1. Realizowane badania oparte były na małej liczbie prób, co zresztą podkreśla sama Doktorantka, a co sprawiło, że badania mają charakter wstępny, pilotażowy. Ich potwierdzenie wymagać będzie poszerzenia liczebności prób badanych oraz dokładnego określenia kryteriów włączenia i wyłączenia chorych z planowanych badań.
2. W publikacji: „*Profiling of carnitine shuttle system intermediates in gliomas using solid-phase microextraction (SPME)*”, Doktorantka zastosowała model doświadczalny, wykorzystujący mysz mózg jako tkankę modelową. Zważywszy perspektywy wdrożenia badanych w pracy

doktorskiej, innowacyjnych metod analitycznych w praktyce klinicznej, należałoby też wziąć pod uwagę poszerzenie doświadczeń, z zastosowaniem wieprzowego modelu badawczego (*The pig model in brain imaging and neurosurgery, Animal 2009, 3(8): 1138-1151; The use of pigs in neuroscience: modeling brain disorders. Neurosci Biobehav Rev 2007, 31(5): 728-751*). Mózg wieprzowy cechuje się bowiem podobieństwami do ludzkiego mózgu pod względem wielkości, struktury, składu i rozwoju (*Pig brains have homologous resting-state networks with human brains. Brain Connect 2019, 9(7): 566-579*).

Reasumując stwierdzam, iż praca Pani mgr Joanny Marty Bogusiewicz, nosząca tytuł: „Analiza lipidomiczna w diagnostyce guzów mózgu” w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim, spełniając warunki określone w art.187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 r., poz. 574). Ma charakter zarówno poznawczy jak i aplikacyjny. Świadczy o dużej wiedzy Doktorantki, znajomości nowoczesnych, złożonych technik badawczych i manualnych umiejętnościach, o umiejętności współpracy ze specjalistami reprezentującymi różne dziedziny naukowe, jak i – umiejętności pozyskiwania funduszy na prowadzenie skomplikowanych, interdyscyplinarnych badań.

Z pełnym więc przekonaniem przedkładam Pani dr hab. Katarzynie Sierakowskiej, prof. UMK – Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Lekarski Collegium Medicum w Bydgoszczy, wniosek o dopuszczenie Pani mgr Joanny Marty Bogusiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, zważywszy wysoki naukowy poziom ocenianej rozprawy, będącej dobrze zaplanowanym i przeprowadzonym, opartym na rzetelnej analizie piśmiennictwa opracowaniem naukowym, wnoszącym oryginalny i znaczący wkład do współczesnej wiedzy na temat nowych strategii diagnostycznych guzów mózgu, w tym – ich diagnostyki śródoperacyjnej, realizowanym we współpracy z prestiżowym ośrodkiem badawczym w Kanadzie, oraz dwoma krajowymi zespołami klinicznymi, a ponadto – współfinansowanym przez Narodowe Centrum Nauki i Ministerstwo Obrony Narodowej, a którego wyniki opublikowane zostały w renomowanych czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu oraz wysokim współczynnikiem oddziaływania (łączna wartość IF dla trzech publikacji = 16.132), uprzejmie przedkładam wniosek o wyróżnienie ocenianej dysertacji.


prof. dr hab. n. med. Krystyna Olczyk