



UNIWERSYTET  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU

Wydział Farmaceutyczny  
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Prof. dr hab. Michał Piotr Marszałł

KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII LEKÓW  
ul. Dr Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz,  
tel. +48 52 585 35 32, fax. +48 52 585 35 29  
e-mail: mmars@cm.umk.pl

Bydgoszcz, dn. 16.01.2019 r.

## Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr farm. Agaty Światły-Błaszkiwicz

„Wybrane strategie proteomiczne w poszukiwaniu wskaźników chorób nowotworowych układu  
płciowego”

wykonanej pod kierunkiem promotora Prof. dr hab. Zenona Kokota

oraz promotora pomocniczego dr hab. Jana Matysiaka

w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej

Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu.

Niezmiennie już od ponad dwóch dekad obserwuje się wzrost zainteresowania naukami „omicznymi”, które wchodzą w skład tzw. systemiki (biomiki), zmierzającej do wyjaśnienia biologiczno-chemicznych zasad funkcjonowania organizmu przy użyciu nowoczesnych metod chemicznych. Interdyscyplinarna systemika kryje w sobie wielki potencjał odkryć, które mogą doprowadzić do lepszego zrozumienia działania organizmów żywych, a następnie do opracowania skutecznej diagnostyki chorób i ich optymalnej farmakoterapii.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Agaty Światły-Błaszkiwicz „Wybrane strategie proteomiczne w poszukiwaniu wskaźników chorób nowotworowych układu płciowego” opisuje połączenie ww. strategii z uwzględnieniem analizy proteomicznej strategii w badaniach biologicznych i klinicznych.

Zaproponowany temat rozprawy doktorskiej wpisuje się w nurt badań naukowych z zakresu metabolomiki i proteomiki prowadzonych przez zespół z Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej UMP pod opieką Pana Prof. dr hab. Zenona Kokota, promotora przedstawionej rozprawy doktorskiej.

Praca doktorska ma układ spójnego tematycznie zbioru publikacji i zgodnie z umieszczoną informacją przez autorkę – została przygotowana na podstawie ujednoczonych zasad przygotowania rozprawy doktorskiej na Wydziale Farmaceutycznym UMP. Spójnie tematyczny zbiór składa się z czterech artykułów (w tym 1 pracy poglądowej) o łącznej wartości współczynnika IF wynoszącym 13,029, opublikowanych w latach 2017-2018 w recenzowanych czasopismach z Listy Filadelfijskiej. Godnym podkreślenia jest fakt, że Doktorantka w 3 artykułach jest głównym – pierwszym autorem.

Rozprawa doktorska składa się z wyżej opisanych artykułów poprzedzonych wykazem skrótów oraz krótkim opisem sylwetki naukowej Doktorantki. W cyklu załączonych publikacji opisany został jej wkład w powstanie publikacji naukowej wchodzących w skład przedstawionej dysertacji. Następnie została opisana część teoretyczna dotycząca tematyki przedstawionej dysertacji, cel pracy, przedmiot badań i metodyka oraz komentarz opisujący przedmiot badań załączonych publikacji. Na końcu zostały opisane wnioski i streszczenie oraz załączone zgody Komisji Bioetycznej UMP na przeprowadzenie zadań badawczych będących częścią rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia współautorów publikacji potwierdzające znaczny wkład mgr farm. Agaty Świątły-Błaszczewicz w realizację opisanych badań.

Cel badań został jasno przedstawiony – opracowanie oraz wdrożenie metod pozwalających na proteomiczną charakterystykę chorób nowotworowych układu płciowego z zastosowaniem nowoczesnej platformy analitycznej obejmującej spektrometrię mas, chromatografię cieczową oraz testy immunoenzymatyczne. Dokładny plan realizacji zadań badawczych został przedstawiony przez Doktorantkę w szczegółowych celach opisanych w czterech etapach.

Załączony cykl publikacji rozpoczyna praca przeglądowa opublikowana w *Journal of Ovarian Research*, która opisuje dotychczasowe osiągnięcia w rozwój strategii proteomicznych w badaniach nad rakiem jajnika. Praca ta stanowi I etap badań w ramach rozprawy doktorskiej - wstęp na bazie której Doktorantka zaplanowała badania łącznie z koncepcją i metodologią. Z drugiej strony opisuje własne prace (których jest współautorką) włączone do cyklu publikacji. Stąd jest ciekawym i przede wszystkim aktualnym zbiorem informacji i doniesień naukowych dotyczących tematyki rozprawy doktorskiej.

II etap prowadzonych badań obejmował oznaczanie białek zaangażowanych w proces angiogenezy jako potencjalnych markerów raka jajnika. Zastosowanie nowoczesnego testu immunologicznego typu Bio-Plex opartego na użyciu przeciwciał oraz nanocząstek magnetycznych pozwoliło na wytypowanie potencjalnych biomarkerów spośród 16 białek proangiogennych. Analizując 172 próbki krwi wytypowano osteopontynę jako marker o największym znaczeniu w diagnostyce różnicowej oraz w badaniach przesiewowych. Ponadto badania pozwoliły na wytypowanie 6 białek

proangiogennych (wśród nich osteopontyna) opisanych w pracy jako najbardziej użytecznych w kierunku diagnostyki raka jajnika.

Podsumowując ten etap badań należy zadać pytanie czym kierował się zespół wybierając panel konkretnych 16 potencjalnych markerów? W praktyce zostały już opisane inne: np. OVA1 polegający na ocenie 5 markerów biologicznych obejmujących m. in. CA125.

III etap badań obejmował opracowanie profilowania białkowo-peptydowego techniką MALDI-TOF MS. Etap ten wymagał od Doktorantki opracowania procedury przygotowania próbek oraz analizy otrzymania i analizy widm MS. Mocnym punktem ww. etapu był fakt nie tylko wyznaczenia panelu pików co ma często miejsce w opisanej literaturze ale również ich identyfikację. Za pomocą analizy chemometrycznej oraz połączenia technik MALDI-TOF/TOF MS zidentyfikowano białka surowicy o dużym znaczeniu w rozwoju raka jajnika a część z wytypowanych przez Doktorantkę ma już obecnie zastosowanie w testach diagnostycznych.

W IV etapie Doktorantka podjęła próbę ilościowej analizy białek w badanych surowicach poprzez optymalizację metody znakowania izobarycznego w połączeniu ze spektroskopią mas MALDI-TOF. Połączenie różnych technik analitycznych pozwoliło na wytypowanie 5 cząsteczek/białek, których ekspresja jest najbardziej zmieniona podczas procesu karcenogenezy.

Przedstawioną mi do recenzji pracę oceniam bardzo dobrze. Przedstawia ona interdyscyplinarne podejście do zagadnienia – identyfikacji nowych markerów chorób nowotworowych układu płciowego. Z jednej strony przedstawia ona propozycje lub potwierdza słuszność stosowania zidentyfikowanych już markerów w różnicowaniu raka jajnika w praktyce. Ponadto proponuje i opisuje skuteczność opracowanych protokołów analitycznych pozwalających na identyfikację białek, których ekspresja ulega zmianie podczas rozwoju raka jajnika. Bez wątplenia wkład Doktorantki w realizację pracy jest znaczący. Oprócz dobrej znajomości technik analitycznych w połączeniu z analizą chemometryczną i statystyczną wykazała się umiejętnością współpracy z różnymi zespołami w tym klinicystami oraz analitykami. Dowodem na to jest chociażby udział jak współwykonawca w 3 projektach realizowanych w ramach Narodowego Centrum Nauki. Również lektura załączonych publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej pozwala twierdzić, iż cel został osiągnięty. Na podkreślenie zasługuje fakt dobrego przygotowania doktoranta przez promotora oraz promotora pomocniczego, które potwierdzają już wcześniej wspomniane 4 publikacje o sumarycznym współczynniku oddziaływania (IF 13,029).

Stwierdzam, iż praca doktorska odpowiada wymaganiom stawianym przez obowiązujące przepisy. Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie Pani magister Agaty Światły-Błaszkievicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego celem uzyskania stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

KIEROWNIK  
Katedry i Zakładu Chemii Leków

prof. dr hab. Michał Marszałł 3