

Bydgoszcz, 21.11.2018

**Sz. P. Prof. dr hab. Michał Markuszewski**  
**Dziekan Wydziału Farmaceutycznego z OML**  
**Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego**

**Al. Gen. J. Hallera 1107**  
**80-4116 Gdańsk**

Szanowny Panie Dziekanie,

W odpowiedzi na pismo Pana Dziekana w dnia 18 września 2018 przesyłam recenzję rozprawy doktorskiej mgr Ewy Bartosińskiej na temat: „*Opracowanie bioanalitycznych metod oznaczania tokochochromanoli w tkance tłuszczowej pochodzącej z gruczołu piersiowego kobiet*”. Do oceny pracy dołączam także wniosek o wyróżnienie rozprawy.

Łączę wyrazy szacunku,

  
KIEROWNIK  
Katedry i Zakładu Farmakodynamiki  
i Farmakologii Molekularnej

*dr hab. Barbara Bojko*

Bydgoszcz dn. 21.11.2018

### **Ocena rozprawy doktorskiej Pani mgr Ewy Bartosińskiej**

Ocenę przygotowano w związku z pismem nr DWF-481-D-369/2017 z dnia 18.09.2018  
Dziekana Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego  
Uniwersytetu Medycznego, prof. dr hab. Michała Markuszewskiego zgodnie z uchwałą Rady  
Wydziału Farmaceutycznego z OML GUMed z dnia 11.09.2018.

#### **Informacje ogólne**

Podstawą ubiegania się mgr Ewy Bartosińskiej o stopień naukowy doktora jest cykl 5 prac, składający się z jednego rozdziału w książce, jednej pracy przeglądowej oraz trzech prac oryginalnych, przedstawiony pod wspólnym tytułem: „*Opracowanie bioanalitycznych metod oznaczania tokochromanoli w tkance tłuszczowej pochodzącej z gruczołu piersiowego kobiet*”. Rozprawa doktorska składa się z: wykazu skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, części teoretycznej, celu pracy, części doświadczalnej, podsumowania i wniosków, bibliografii i oświadczeń współautorów. Wskaźnik Impact Factor (IF) poszczególnych publikacji naukowych zgłoszonych w cyklu wynosi od 1,688 do 4,244, a ich sumaryczny IF to 11,157.

#### **Ocena rozprawy doktorskiej**

Rozprawa jest skonstruowana w sposób estetyczny i przejrzysty. W pracy nie znaleziono błędów stylistycznych, interpunkcyjnych, ortograficznych lub gramatycznych, z wyjątkiem drobnych literówek np. „dyspersive” zamiast „dispersive” (strona 16, punkt 2.2.1). Streszczenie stanowi dobrą syntezę tematu odzwierciedlającą poszczególne części rozprawy podkreślając najważniejsze informacje opisane w szczegółach w kolejnych rozdziałach rozprawy. Część teoretyczna rozpoczyna się wprowadzeniem czytelnika w temat witaminy E jako kilku związków będących wzajemnymi homologami o różnorodnych właściwościach biologicznych. Autorka podkreśliła szczególną rolę tokoferoli i tokotrienoli w działaniu przeciwnowotworowym, co jest spójne z aspektem klinicznym Jej pracy i tłumaczy wybór materiału biologicznego do badań.

W kolejnym podrozdziale części teoretycznej przeprowadzona została analiza technik stosowanych do ekstrakcji interesujących Doktorantkę związków. Przegląd metod uwzględnił plusy i minusy każdej z nich w odniesieniu do właściwości samych związków,



w tym szczególnie ich niestabilności przy stosowaniu pewnych odczynników chemicznych oraz wrażliwości na promieniowanie UV i wysoką temperaturę. Zwrócono także uwagę na powinowactwo tokochromanoli do badanych matryc biologicznych ze względu na silną lipofilowość tych substancji i przewidywanych wyzwań podczas odzysku z tkanki tłuszczowej. Bardzo czytelne zestawienie omówione w tej części przedstawione zostało w postaci dwóch Tabel. Podobny przegląd literaturowy dotyczy analizy instrumentalnej opartej na chromatografii cieczowej sprzężonej z różnymi detektorami. Zarówno etap separacji omawianych związków ze względu na ich zbliżoną budowę, jak i detekcja za pomocą rozpowszechnionej obecnie spektrometrii mas na skutek słabej jonizacji tokochromanoli stanowi spore wyzwanie analityczne. Wspomniane zestawienia zostały wykonane rzetelnie, uwzględniając najnowszą literaturę w tym zakresie oraz oceniając w sposób obiektywny możliwości danych rozwiązań, co znalazło swoje odzwierciedlenie w opracowaniu własnej metody analitycznej wykorzystanej następnie do wykrycia czterech tokoferoli i czterech tokotrienoli w tkance tłuszczowej pochodzącej z gruczołu piersiowego 99 kobiet.

W kolejnym rozdziale dysertacji Pani mgr Bartosińska przedstawiła cztery cele swojej pracy, które obejmowały opracowanie metody ekstrakcji wytypowanych analitów ze wspomnianego materiału biologicznego, optymalizację i walidację protokołu instrumentalnego opartego o jedną z dwóch ewentualnych metod detekcji: fluorescencji lub spektrometrii mas, optymalizację źródła APCI w celu zwiększenia efektywności jonizacji badanych związków oraz zastosowanie opracowanej metody do badania próbek klinicznych. Następny rozdział pracy, tj. jej część doświadczalna, stanowi zbiór publikacji zgłoszonych w cyklu.

Prace będące podstawą zgłoszonej do oceny rozprawy doktorskiej stanowią spójną, logiczną, całość tematyczną i badawczą. Pomimo że podstawowa tematyka pracy dotyczy strony analitycznej, Doktorantka w pierwszej pozycji literaturowej przedstawia dietetyczne i medyczne aspekty witaminy E, co samo w sobie nie jest celem rozprawy, ale znakomicie podkreśla przygotowanie mgr Ewy Bartosińskiej do prowadzenia badań tokochromanoli w wybranym materiale biologicznym nie tylko w części analitycznej, jak również w interpretacji wyników. Ponadto, fakt, że książka, w której znajduje się rozdział będący częścią ocenianego cyklu ukazał się drukiem w roku 2013 jest dowodem na długą współpracę Doktorantki z Katedrą Biofarmacji i Farmakodynamiki oraz dr hab. Danutą Siluk, promotorem pracy doktorskiej, a także świadectwem na rzetelne przygotowanie mgr Ewy Bartosińskiej do zmierzenia się z tematem swojego doktoratu. Należy



podkreślić, że nie jest częstym, aby doktorant był współautorem, a zwłaszcza drugim autorem rozdziałów w książkach, w szczególności anglojęzycznych.

Kolejna publikacja to praca przeglądowa stanowiąca szczegółowe omówienie metod chromatograficznych, zarówno w fazie gazowej jak i ciekłej, stosowanych do rozdziału związków należących do tokoferoli i tokotrienoli oraz ich detekcji z zastosowaniem spektrometrów mas wyposażonych w źródła pracujące pod ciśnieniem atmosferycznym. Zwrócono uwagę na aspekty derywatywacji niezbędnej w przypadku stosowania chromatografii gazowej oraz warunki MS polepszające jonizację, a tym samym czułość i jakość analiz. Podobnie jak w przypadku poprzedniej publikacji praca ta jest rozszerzeniem informacji zawartych w części teoretycznej rozprawy. Artykuł, którego Doktorantka jest wiodącym autorem opublikowany został w czasopiśmie *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* o wskaźniku IF 3,255.

Pierwsza z serii trzech prac oryginalnych należących do cyklu przedstawia opracowanie i walidację metody HPLC-APCI-MS/MS do oznaczania tokotrienoli w tkance tłuszczowej gruczołu piersiowego. Podobnie jak we wszystkich pozostałych pracach oryginalnych Pani mgr Bartosińska jest pierwszym autorem publikacji. Zaproponowana przez Doktorantkę strategia analityczna w pełni spełniła kryteria stawiane metodom stosowanym w bioanalizie, a pod względem merytorycznym stanowi istotny wkład w analizę badanej grupy związków, o czym świadczy publikacja w czasopiśmie *Talanta* posiadającym wysoki wskaźnik IF (4.244). Metoda pozwala na otrzymanie dobrej separacji w krótkim czasie (10 min), uniknięcie efektu matrycy, wysoką precyzję i powtarzalność, a tym samym przeprowadzenie w pełni ilościowych analiz celowanych związków w wybranej przez autorów tkance tłuszczowej pochodzącej z gruczołu piersiowego. Opracowanie metody dopełniały wyniki otrzymane na małej grupie badanej.

Ze względu na postawiony nadrzędny cel rozprawy jakim było równoczesne oznaczanie wybranych tokoferoli i tokotrienoli Doktorantka kontynuowała badania nad wykorzystaniem APCI do oznaczeń tych związków, czego wynikiem stała się kolejna praca opublikowana w *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, czasopiśmie o IF 1,970. W przedstawionej pracy autorzy włączyli się w trudne zagadnienie związane z wpływem różnych parametrów na jonizację tokochromanoli i przeanalizowali uzyskane zależności posługując się statystycznymi modelami wielowymiarowymi. Brak powtarzalności w analizach spowodowany niemożliwością doboru parametrów zapewniających stabilną jonizację wszystkich badanych związków doprowadził do kolejnej modyfikacji metody opartej na detekcji fluorescencyjnej. Metoda została przygotowana w oparciu o plan centralny

kompozycyjny, co pozwoliło na otrzymanie optymalnych warunków separacyjnych przy wykonaniu minimalnej ilości eksperymentów. Końcowa metoda oferowała znaczną poprawę wyników w porównaniu z przedstawioną wcześniej metodą HPLC-APCI-MS/MS i została wykorzystana do oznaczeń 99 próbek pochodzących od kobiet z nowotworem piersi (n=81), kobiet zdrowych (n=8) oraz kobiet zmarłych w wyniku wypadków (n=10). Dokonano statystycznego opracowania wyników w celu porównania poziomów poszczególnych związków w badanych grupach. Przetawione badania były pierwszymi oznaczeniami witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w tkance tłuszczowej pochodzącej z gruczołu piersiowego. Opisane wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Biomedical Chromatography* o wskaźniku IF 1,688.

### **Podsumowanie**

Zaprezentowana rozprawa doktorska Pani mgr Ewy Bartosińskiej składa się z cyklu prac naukowych opublikowanych w prestiżowych czasopismach z listy filadelfijskiej, a ich sumaryczny współczynnik oddziaływania IF wynosi 11,157. Osiągnięcie jako całość można określić jako nowatorskie i interdyscyplinarne, a tym samym świadczące o dużej dojrzałości naukowej Doktorantki.

Na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że w pełni spełnia ona wymogi merytoryczne i formalne stawiane dysertacjom doktorskim. Niniejszym, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Ewy Bartosińskiej do dalszych etapów postępowania w ubieganiu się o stopień naukowy doktora, a następnie przyznanie Jej rzeczzonego stopnia. Równocześnie, ze względu na wysoki poziom rozprawy, wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie opiniowanej pracy.

PROF. DR HAB.  
Katedry i Zakładu Farmakodynamiki  
i Farmakologii Molekularnej

*dr hab. Barbara Bojko*



UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU  
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy  
Katedra i Zakład Farmakodynamiki  
i Farmakologii Molekularnej  
ul. dr. A. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz  
tel. 52/535-35-26, 52/535-35-64, fax 52/535-36-15  
e-mail: kizfarmakular@cm.umk.pl

Bydgoszcz, 21.11.2018

*Pieczątka jednostki organizacyjnej recenzenta*

Dr hab. n. farm. Barbara Bojko

*Imię i nazwisko recenzenta*

Imię i nazwisko doktoranta: **Ewa Bartosińska**

Tytuł pracy doktorskiej: „Opracowanie bioanalitycznych metod oznaczania tokochromanoli w tkance tłuszczowej pochodzącej z gruczołu piersiowego kobiet”

### WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Niniejszym zwracam się do Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej.

Uzasadnienie:

Przedstawiona do recenzji praca stanowi cykl pięciu spójnych publikacji o wysokim łącznym wskaźniku oddziaływani IF 11,157. W czterech z pięciu prac Doktorantka jest pierwszym autorem, w czym zawierają się wszystkie prace eksperymentalne. Istotnym jest fakt interdyscyplinarności pracy, podczas przygotowania której Autorka musiała zgłębić wiedzę z zakresu chemii analitycznej i instrumentalnej, biologii, farmacji, medycyny i chemometrii. Logiczny ciąg eksperymentalny, często wsparty modelowaniem statystycznym, doprowadził do opracowania nowatorskiej metody oznaczania trudnych analitycznie, a jednocześnie istotnych biologicznie związków. Badania przeprowadzone na znacznej liczbie próbek pochodzących łącznie od trzech grup kobiet były pierwszymi w których dokonano jednoczesnej oceny tokoferoli i tokotriazoli w tkance tłuszczowej gruczołu piersiowego w sposób ilościowy. Opublikowanie wspomnianych osiągnięć w takich czasopismach jak np. Talanta świadczy o znaczącym ich wkładzie w tematykę zagadnienia związanego z oznaczaniem witaminy E w tkankach i innych próbkach biologicznych w celu oceny jej protekcyjnych właściwości w różnych stanach patologicznych, w tym chorobach nowotworowych.

KIEROWNIK  
Katedry i Zakładu Farmakodynamiki  
i Farmakologii Molekularnej

*dr hab. Barbara Bojko*