



dr hab. n. farm. Ireneusz Sowa
UNIWERSYTET MEDYCZNY w LUBLINIE
KATEDRA CHEMII, ZAKŁAD CHEMII ANALITYCZNEJ
ul. Chodźki 4A, 20-093 Lublin, tel./fax (081) 535-73

Lublin, 17.08.2023

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Julii Jacyny pt. „*Analizy metabolomiczne w nowotworach pęcherza moczowego z zastosowaniem technik analitycznych sprzężonych ze spektrometrią mas oraz zaawansowanych metod statystycznych*”, wykonanej w Zakładzie Biofarmacji i Farmakokinetyki Katedry Biofarmacji i Farmakodynamiki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Choroby nowotworowe, w tym rak, stanowią jedną z największych globalnych plag zdrowotnych, wymagając skutecznych strategii profilaktycznych i diagnostycznych. Wczesna diagnoza jest kluczowa dla skutecznego leczenia nowotworów, dlatego rozwijane są innowacyjne metody diagnostyczne, takie jak analiza metabolomiczna (AM). AM może dostarczyć informacji m.in. na temat procesów biologicznych zachodzących w komórkach nowotworowych. Wykorzystanie sprzężonych technik analitycznych t.j. HPLC-MS i GC-MS do analizy metabolomu może pozwolić na identyfikację charakterystycznych zmian metabolitów powiązanych z obecnością nowotworu. Ponadto analiza metabolomiczna może pomóc w odkrywaniu biomarkerów nowotworowych, które umożliwią wcześniejszą diagnozę i personalizowane podejście do leczenia. Zaawansowane technologie analizy danych, takie jak uczenie maszynowe i sztuczna inteligencja, mogą przyczynić się do efektywnego przetwarzania ogromnych ilości danych metabolomicznych w celu identyfikacji istotnych wzorców. Kombinacja analizy metabolomicznej z innymi metodami diagnostycznymi, takimi jak obrazowanie medyczne czy badania genetyczne, może dostarczyć kompleksowej wiedzy na temat choroby nowotworowej. Mimo że analiza metabolomiczna staje się coraz bardziej

obiecującą metodą w diagnostyce nowotworów, to jednak jej wdrożenie kliniczne wymaga dalszych badań i walidacji. AM ma potencjał do zrewolucjonizowania sposobu, w jaki diagnozowane są choroby nowotworowe poprzez dostarczenie bardziej precyzyjnych, wcześniejszych i bardziej spersonalizowanych informacji na temat stanu zdrowia pacjentów.

Moim zdaniem wybór tematu pracy doktorskiej jest bardzo aktualny i interesujący, prowadzone badania mają szeroki zakres eksperymentalny, a uzyskane wyniki mogą mieć znaczenie w diagnostyce nowotworów. Część doświadczeń Autorka wykonała we współpracy między innymi z pracownikami jednostek naukowych z kraju (Katedra i Klinika Urologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Medycyny Rodzinnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego) oraz z Europy (Université Paul Sabatier), co jednoznacznie świadczy o jej umiejętności pracy w zespołach badawczych.

Recenzowana praca doktorska opiera się na opracowaniach przeglądowych (rozdział w książce i praca przeglądowa) oraz trzech pracach badawczych, z których dwie zostały opublikowane w cenionych czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports, uzyskując łączny współczynnik oddziaływania $IF=11,3$. We wszystkich opublikowanych artykułach Doktorantka figuruje jako pierwszy autor, a załączone oświadczenia Doktorantki oraz współautorów podkreślają jej wiodącą rolę w opracowaniu ogólnej koncepcji pracy, zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie, interpretacji i dyskusji wyników badań, a także w przygotowaniu publikacji.

Zebrane publikacje poprzedzone są zwięzłym streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz krótkim wprowadzeniem w tematykę dysertacji, w którym Autorka omawia wybrane aspekty związane z nowotworami pęcherza moczowego (dane epidemiologiczne, czynniki ryzyka, klasyfikacje histopatologiczną oraz rozpoznanie), analizę metabolomiczną ze szczególnym uwzględnieniem niecelowanej analizy metabolomicznej i jej zastosowania w diagnostyce nowotworów pęcherza moczowego oraz podejścia projakościowe w metabolomice.

W tym miejscu prezentuje i omawia dwie pozycje. Pierwszą z nich jest rozdział pt. „*Quality by Design in Bioanalytics*”, zamieszczony w podręczniku „*Handbook of bioanalytics*” (edytorzy: Bogusław Buszewski, Irena Baranowska) wydanym przez *Springer*. Fakt zaproszenia do napisania w/w rozdziału potwierdza, że Doktorantka jest specjalistką w omawianej tematyce. Rozdział omawia metodologię *Quality by Design* (QbD) ze szczególnym uwzględnieniem zastosowania jej w badaniach bioanalitycznych. Kolejnym potwierdzeniem kompetencji Doktorantki jest współautorstwo w artykule przeglądowym pt. „*Design of Experiments in metabolomics-related studies: An overview*” opublikowanym w *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* - dobrym i uznanym czasopiśmie (obecnie IF=3,4 oraz 100 pkt według najnowszego wykazu czasopism naukowych MEN). W pracy skupiono się na zagadnieniu dotyczącym planowania eksperymentów (ang. Design of Experiments, DoE) omówiono historię DoE, rodzaje planów eksperymentalnych a także plany zastosowania DoE w badaniach metabolomicznych oraz obecne trendy i kierunki podejść pro jakościowych.

W kolejnej części opracowania Autorka w sposób punktowy uzasadnia celowość podjętego w doktoracie tematu badawczego.

Część doświadczalną stanowią trzy oryginalne prace opublikowane w latach 2019-2022. Na moją szczególną uwagę zwróciła pierwsza z nich p.t.: „*Urinary metabolomic signature of muscle-invasive bladder cancer: A multiplatform approach*” opublikowana w jednym z najlepszych czasopism z dziedziny chemii analitycznej - *Talanta* (Rank 13/141, 91percentile) posiadającym obecnie IF = 6,1 (oraz 140 pkt według najnowszego wykazu czasopism naukowych MEN). W pracy tej zastosowano nowoczesne komplementarne chromatograficzne techniki analityczne: HPLC-TOF/MS (w układach RP i HILIC) i GC-QqQ/MS oraz spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR) by przeprowadzić niecelowane analizy metabolomiczne próbek moczu. Badany materiał pochodził od reprezentatywnej grupy pacjentów (n=24) z inwazyjnym nowotworem pęcherza moczowego oraz od zdrowych

ochotników (n=24). Celem badania było odnalezienie i zidentyfikowanie indywidualnych związków chemicznych, powiązanych z patomechanizmem nowotworu pęcherza moczowego, które w przyszłości mogą być potencjalnie przydatne w diagnostyce i prognozowaniu przebiegu choroby. W rezultacie wybrano sześć zestawów danych, dla których przeprowadzono analizę statystyczną, zarówno jednowymiarową, jak i wielowymiarową. Profil metabolomiczny u pacjentów z nowotworem pęcherza moczowego znacząco różnił się w porównaniu do profilu u zdrowych ochotników. Różnice były widoczne w przypadku siedemnastu związków, powiązanych m.in. ze szlakami biochemicznymi aminokwasów, pirymidyn i puryn. Mimo że jest to wieloautorska praca wykonana w jednostkach badawczych w kraju (University of Warsaw, Medical University of Gdańsk) oraz zagranicą (Université Paul Sabatier, France), to widać w niej wiodącą rolę doktorantki praktycznie na każdym etapie, o czym świadczą oświadczenia współautorów.

Bardzo wysoko oceniam również badania, które posłużyły do napisania drugiej pracy wchodzącej w cykl należący do części doświadczałnej pt.: *„Pre- and Post-Resection Urine Metabolic Profiles of Bladder Cancer Patients: Results of Preliminary Studies on Time Series Metabolomics Analysis”* opublikowanej w *Cancers* osiadającym obecnie IF = 5,2 (oraz 200 pkt według najnowszego wykazu czasopism naukowych MEN). Badania opisane w tej pracy obejmowały niecelowaną analizę metabolomiczną próbek moczu pacjentów przed i po przezcewkowej elektroresekcji guza pęcherza moczowego. W pracy wykorzystano HPLC-TOF/MS i GC-QqQ/MS w celu oceny różnic metabolicznych w czasie. Ponadto oceniono zawartość metabolitów, które wcześniej wybrano w ramach projektu opisanego w pierwszej pracy (Talanta), uzyskując dla trzech z nich potwierdzenie jako potencjalnych markerów wykorzystywanych do diagnostyki nowotworu pęcherza moczowego. Wybrano również kompozycje metabolitów, których zmiany w największym stopniu różnicowały się w czasie. Wybrane indywidualne związki chemiczne są powiązane z metabolizmem nukleotydów.

Ostatnią z prac opisaną w tej części jest ciekawa praca p.t. „*Evaluation of robustness in untargeted metabolomics: Application of multivariate analysis, linear regression and hierarchical modeling*” opublikowana w *Journal of Chromatography Open*. W pracy tej dodatkowo przeprowadzono ocenę elastyczności zastosowanej metody przygotowania próbek do analizy GC-MS, w celu potwierdzenia, że różnice wynikają głównie z odmiennego charakteru biologicznego badanego materiału. Co ciekawe, w tym celu wykorzystano podejście klasycznie stosowane w celowanej analizie metabolomicznej, choć zastosowano inną strategię w kontekście 'odpowiedzi' badanego procesu. Takie rozwiązanie umożliwiło identyfikację kluczowych etapów przygotowania próbki biorąc pod uwagę intensywności sygnałów oznaczanych metabolitów. Dodatkowo, uzyskane wyniki mogą być użyteczne przy doborze warunków w analizie metabolomicznej z użyciem GC-MS dla metabolitów o różnych właściwościach fizykochemicznych lub w celu poprawy jakości i powtarzalności analiz (np. zmniejszenie liczby n w ramach jednej analizy).

Moim zdaniem, zarówno ilość, jak i jakość przeprowadzonych badań uprawniała Autorów do wysłania pracy do Czasopisma o znacznie większym współczynniku oddziaływania, co umożliwiłoby dotarcie do szerszej grupy czytelników. Wydaje się, że potwierdzeniem tego jest liczba cytowań - do chwili sporządzenia recenzji praca ta nie była jeszcze cytowana. Pozostałe dwie prace były już 20-krotnie cytowane (Talanta-16 i Cancers 4 cytowania) co dodatkowo świadczy o ich wysokiej jakości.

W dalszej części opracowania znajduje się rozdział zatytułowany "Podsumowanie i wnioski", w którym Autorka w sposób zwięzły opisuje uzyskane wyniki i przedstawia wnioski adekwatne do przeprowadzonych badań. Ponadto, do rozprawy dołączony jest spis literatury (100 pozycji), wykaz stosowanych skrótów, oraz oświadczenia współautorów prac stanowiących podstawę doktoratu.

Moim zdaniem w opracowaniu brak jest oddzielnego rozdziału „Dyskusja”, którego umieszczenie ułatwiłoby czytelnikowi zebranie w jednym miejscu dyskusji otrzymanych wyników z literaturą naukową (bez konieczności zagłębienie do każdej z publikacji) oraz umożliwiłoby przedyskutowanie wyników ze wszystkich prac wchodzących w skład cyklu pomiędzy sobą.

W trakcie lektury nasunęło mi się również pytanie dotyczące możliwych kolejnych kierunków badawczych Doktorantki związanych z diagnostyką nowotworu pęcherza (tzw. „future perspective”).

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Julii Jacyny pt. „Analizy metabolomiczne w nowotworach pęcherza moczowego z zastosowaniem technik analitycznych sprzężonych ze spektrometrią mas oraz zaawansowanych metod statystycznych”, jest nie tylko interesująca, ale cechuje się również dużą wartością praktyczną uzyskanych wyników. Ponadto, mogę stwierdzić, że Pani mgr Julia Jacyna jest już dojrzałym naukowcem, o czym świadczy liczba cytowań jej prac - ok. 400, oraz Indeks Hirscha, który wynosi 11. Są to bardzo dobre parametry jak na ten etap rozwoju naukowego.

Recenzowana dysertacja w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, w związku z tym, z wielką przyjemnością mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Nauk Farmaceutycznych, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie mgr Julii Jacyny do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, ze względu na istotne walory oryginalności naukowej oraz mając na uwadze wysoką jakość uzyskanych wyników i wiodącą rolę Doktorantki w powstawaniu publikacji naukowych wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Katedra Chemii, Zakład Chemii Analitycznej
Ireneusz Sowa
prof. dr hab. n. farm. Ireneusz Sowa

Prof. dr hab. n. farm. Ireneusz Sowa