

Recenzja rozprawy doktorskiej pani **Kamili Duś-Szachniewicz** pt. „**Analiza proteomu gruczolak i gruczolakoraka jelita grubego metodą spektrometrii mas z wykorzystaniem archiwalnych tkanek zatopionych w parafinie**”.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA WYDZIAŁU LEKARSKIEGO

wp. dn. 14 STY. 2015

L.dz. DUJ 128/16
Znak sprawy DL-

Przedmiotem pracy doktorskiej była analiza proteomu raka jelita grubego ze szczególnym uwzględnieniem cech związanych z procesem transformacji nowotworowej tkanki prawidłowej przez etap gruczolaka do gruczolakoraka. Szczegółowymi celami projektu były: (i) opracowanie nowej metody analizy proteomicznej archiwalnego materiału klinicznego, (ii) wykorzystanie tej metody do scharakteryzowania proteomu różnych etapów rozwoju nowotworu, (iii) identyfikacja białek i procesów kluczowych dla rozwoju raka jelita grubego, oraz (iv) weryfikacja przydatności białka zidentyfikowanego metodami proteomicznymi (białko MFI2) jako biomarkera raka jelita grubego. Oryginalny projekt badawczy będący przedmiotem rozprawy doktorskiej ma olbrzymią wartość naukową i dotyczy jednego z najważniejszych zagadnień onkologii, a jego wyniki mają potencjalnie duże znaczenie praktyczne dla rozwoju metod diagnostyki i leczenia nowotworów. Realizacja projektu wymagała od Doktorantki uzyskania wiedzy i kompetencji umożliwiających wykorzystanie metodologii będącej tzw. *state-of-the-art* współczesnych nauk biomedycznych.

Rozprawa doktorska ma formę cyklu opublikowanych prac uzupełnionych wprowadzeniem, podsumowaniem, streszczeniem i wymaganymi załącznikami (m.in. oświadczeniami współautorów publikacji tworzących cykl). W skład cyklu wchodzi pięć publikacji opublikowanych w latach 2012-2015:

- [1] Duś-Szachniewicz K, Ostasiewicz P, Woźniak M, Gamian A. Zastosowanie hodowli komórkowych, płynów ustrojowych i tkanek w onkoproteomice. *Postepy Hig Med Dosw.* 2014;68:1312-24.
- [2] Wiśniewski JR, Ostasiewicz P, Duś K, Zielińska DF, Gnad F, Mann M. Extensive quantitative remodeling of the proteome between normal colon tissue and adenocarcinoma. *Mol Syst Biol.* 2012;8:611.
- [3] Wiśniewski JR, Duś K, Mann M. Proteomic workflow for analysis of archival formalin-fixed and paraffin-embedded clinical samples to a depth of 10 000 proteins. *Proteomics Clin Appl.* 2013;7:225-33.

[4] Wiśniewski JR, Duś-Szachniewicz K, Ostasiewicz P, Ziółkowski P, Rakus D, Mann M. Absolute proteome analysis of colorectal mucosa, adenoma, and cancer reveals drastic changes in fatty acid metabolism and plasma membrane transporters. *J Proteome Res.* 2015;14:4005-18.

[5] Duś-Szachniewicz K, Ostasiewicz P, Woźniak M, Kołodziej P, Wiśniewski JR, Ziółkowski P. Pattern of melanotransferrin expression in human colorectal tissues: an immunohistochemical study on potential clinical application. *Anticancer Res.* 2015;35:6551-61.

Publikacja [1] jest pracą przeglądową stanowiącą pewien wstęp teoretyczny do całego cyklu. W pracy tej w interesujący i przystępny sposób przedstawione są podstawowe zagadnienia związane ze spektrometrią mas, analizą proteomiczną i wykorzystaniem materiału klinicznego do badań biomarkerów nowotworowych.

W publikacji [2] porównano proteom prawidłowego nabłonka jelita grubego i gruczolakoraka w lokalizacji pierwotnej (cewy gruczołowe) i przerzutach do lokalnych węzłów chłonnych. W pracy stwierdzono między innymi znaczne podobieństwo proteomu raka w lokalizacji pierwotnej i w materiale przerzutowym. Na podkreślenie zasługuje fakt, że publikacja ta była jedną z pierwszych opublikowanych prac, w których znaczne pokrycie proteomu raka (ponad 8 tysięcy białek) uzyskano w tzw. materiale archiwalnym (preparaty FFPE).

Publikacja [3] stanowi pracę metodyczną, w której opisano udoskonalenie metodyki analizy proteomu z archiwalnych preparatów tkankowych FFPE, będącą uzupełnieniem metody MED-FASP (*Multi Enzyme Digestion – Filter Aided Sample Preparation*) opracowanej w zespole JR Wiśniewskiego i M Mann'a. Metoda ta stanowi obecnie *state-of-the-art* w dziedzinie proteomiki klinicznej, umożliwiając analizę ilościową (*label-free quantification*) niemal kompletnego proteomu badanej tkanki (pokrycie proteomu rzędu 99%), co pozwala na prowadzenie analiz porównywalnych z analizami genomicznymi.

W publikacji [4] scharakteryzowano (wykorzystując metodę opisaną w pracy [3]) kompletny proteom prawidłowego nabłonka jelita grubego, gruczolaków jelita grubego i rozwijających się z takiej zmiany niezłośliwej gruczolakoraków jelita grubego. Uzyskane wyniki pozwoliły na identyfikację cech molekularnych towarzyszących transformacji prawidłowego nabłonka przez gruczolak do gruczolakoraka.

W publikacji [5] udokumentowano badanie walidacyjne biomarkera zidentyfikowanego na podstawie analizy proteomicznej. W pracy wykazano m.in., że poziom melanotransferyny umożliwia różnicowanie prawidłowego nabłonka jelita grubego, gruczolaka i gruczolakoraka.

Wszystkie prace oryginalne tworzące cykl zostały opublikowane w liczących się czasopismach o zasięgu międzynarodowym (łącznie IF czasopism, w których opublikowano prace stanowiące rozprawę doktorską wynosi ok. 20). Dwie prace, tj. [2] i [4], zostały opublikowane w najważniejszych czasopismach z dziedziny proteomiki: *Molecular Systems Biology* (IF=11,34) i *Journal of Proteome Research* (IF=4,25). Na podkreślenie zasługuje bardzo dobry odbiór publikacji stanowiących treść rozprawy przez środowisko naukowe: praca [2] opublikowana w roku 2012 była cytowana 72 razy, a praca [3] opublikowana w roku 2013 była cytowana 37 razy. Można przypuszczać, że „świeższe” prace [4] i [5] opublikowane w roku 2015 spotkają się z równie wysokim zainteresowaniem. Tak więc zarówno publikacja powyższych prac w renomowanych czasopismach naukowych jak i ich wysoka rozpoznawalność przez międzynarodowe środowisko naukowe stanowią niezależne potwierdzenie ich znaczenia i wysokiej wartości merytorycznej.

W przypadku rozprawy doktorskiej opartej o współautorski cykl publikacji istotnym elementem recenzji jest ocena indywidualnego udziału Doktoranta w publikacjach stanowiących rozprawę. Ocenę taką można przeprowadzić na podstawie oświadczeń współautorów załączonych do rozprawy. W przypadku dwu publikacji, których Doktorantka jest pierwszym autorem, tj. prac [1] i [5], jest ona autorem odpowiedzialnym za wszystkie istotne elementy, począwszy od koncepcji, poprzez wykonanie do przygotowania finalnego manuskryptu. W przypadku dwu publikacji, których Doktorantka jest drugim autorem, tj. prac [3] i [4], na podstawie załączonych oświadczeń można uznać za równocenny udział pierwszego autora (dr JR Wiśniewski) i Doktorantki: była ona odpowiedzialna za przygotowanie materiału oraz była współodpowiedzialna za przeprowadzenie pomiarów, opracowanie i interpretację wyników oraz przygotowanie publikacji. W pracy [2], której Doktorantka jest trzecim współautorem, jej udział był również istotny (była odpowiedzialna za immunohistochemiczną walidację badań proteomicznych). Udział pozostałych współautorów miał charakter bardziej pomocniczy – uczestniczyli oni w różnych etapach opracowania koncepcji całego projektu, przygotowania materiału, opracowania i interpretacji wyników oraz przygotowania manuskryptów. Po analizie oświadczeń współautorów uznają, że indywidualny wkład Doktorantki w prace stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej

spełnia kryteria określone w artykule 13, ustęp 1 i 4, Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Podsumowanie.

Recenzowana rozprawa doktorska składa się z cyklu publikacji o bardzo wysokiej wartości naukowej. Indywidualny udział Doktorantki w pracach tworzących rozprawę, a także innych pracach składających się na jej dorobek naukowy, stanowi potwierdzenie jej wiedzy i umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Wniosek końcowy:

W mojej opinii przedstawiona rozprawa doktorska w pełni spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, pos.595 z późn. zm.).

W związku z tym wnoszę do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o kontynuowanie postępowania o nadanie pani Kamili Duś-Szachniewicz stopnia doktora.

Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



prof. dr hab. Piotr Widłak

Centrum Onkologii - Instytut, Gliwice

4 stycznia 2016