



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KATEDRA CHEMII KLINICZNEJ I DIAGNOSTYKI MOLEKULARNEJ

ul. Rokietnicka 3
60-806 Poznań

tel. 61 641 83 03
61 641 83 05

Dr hab. n. farm. Ewa Totoń
Pracownia Analizy Białek
e-mail: etoton@ump.edu.pl

Poznań, dnia 27.03.2023

RECENZJA

rozprawy doktorskiej **mgr Katarzyny Michalskiej**

pt. „**Rola polimorfizmów genów kodujących wybrane transportery z rodziny ABC oraz rodziny OATP w predyspozycji do rozwoju oraz skuteczności terapii szpiczaka mnogiego**”

wykonanej pod opieką naukową **Promotora: Prof. dr hab. Marka Mirowskiego**

w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki
Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Podstawa wykonania recenzji

Ocena rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Michalskiej (z *d. Niebudek*) została wykonana na wniosek Dziekana Wydziału Farmaceutycznego i Przewodniczącej Rady Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi Pani prof. dr hab. Anny Kilanowicz-Sapoty.

Sylwetka kandydatki

Pani mgr Katarzyna Michalska (z *d. Niebudek*) ukończyła studia na kierunku Analityka Medyczna na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, uzyskując w roku 2017 dyplom magistra analityki medycznej na podstawie pracy magisterskiej pt. „Ocena polimorfizmu w pozycji G34A genu *ABCG2* w grupie pacjentów ze szpiczakiem mnogim”, wykonanej pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Ewy Balcerczak. Za pracę magisterską Pani magister została nagrodzona I miejscem w Wydziałowym Konkursie Prac Magisterskich Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W tym samym roku rozpoczęła 4-letnie studia doktoranckie w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki

ET.

Molekularnej pod opieką naukową Pana prof. dr hab. Marka Mirowskiego. W roku 2018 Doktorantka podjęła pracę na stanowisku asystenta w ww. Jednostce, w wymiarze 1/3 etatu.

Pani mgr Katarzyna Michalska już w czasach studenckich angażowała się w działalność naukową Uczelni, przewodniczyła Studenckiemu Kołu Naukowemu przy Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki, została laureatką programu grantowego Granty UMEDu oraz czynnie uczestniczyła w licznych konferencjach naukowych. Dodatkowo, co należy podkreślić, aktywnie pracowała na rzecz organizacji studenckiej Łódzkiego Towarzystwa Studentów Medycyny Laboratoryjnej (ŁTSML) uczestnicząc dwukrotnie w organizacji Ogólnopolskiej Konferencji Studentów Medycyny Laboratoryjnej „Młodzi diagności w Łodzi”.

Godny pochwały jest również dotychczasowy dorobek naukowy Kandydatki. Zgodnie z analizą bibliometryczną, przygotowaną przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi obejmuje on 9 publikacji o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 31,689 i punktacji MEiN = 765. Kandydatka jest również współautorem 11 doniesień zjazdowych prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Za swoje osiągnięcia naukowe Pani mgr Katarzyna Michalska była dwukrotnie nagrodzona Nagrodami Naukowymi Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Ocena formalna pracy

Przedstawiona do recenzji praca doktorska zatytułowana „Rola polimorfizmów genów kodujących wybrane transportery z rodziny ABC oraz rodziny OATP w predyspozycji do rozwoju oraz skuteczności terapii szpiczaka mnogiego” stanowi cykl trzech spójnie tematycznych, oryginalnych artykułów naukowych (PI – PIII), opublikowanych w latach 2018-2022:

PI: **Niebudek K**, Balcerczak E, Mirowski M, Żebrowska M. Association of ABCB1 T-129C polymorphism and multiple myeloma risk in Polish population. *Pol J Pathol.* 2018;69(4):405-9. doi: 10.5114/pjp.2018.81700. IF = 0.664; MEiN = 15; 50% udziału

PII: **Niebudek K**, Balcerczak E, Mirowski M, Pietrzak J, Zawadzka I, Żebrowska-Nawrocka M. The contribution of ABCG2 G34A and C421A polymorphisms to multiple myeloma susceptibility. *Onco Targets Ther.* 2019;12:1655-60. doi: 10.2147/ott.s195245. IF = 3.337; MEiN = 70; 50% udziału

PIII: **Michalska K**, Balcerczak E, Jeleń A, Saed L, Pietrzak J, Żebrowska-Nawrocka M. Effects of the SLCO1B1 A388G single nucleotide polymorphism on the development, clinical parameters, treatment, and survival of multiple myeloma cases in a Polish population. *Molecular Biology Reports.* 2022. doi: 10.1007/s11033-022-08162-x. IF = 2.742; MEiN = 70; 49% udziału

We wszystkich pracach wchodzących w skład cyklu Pani mgr Katarzyna Michalska (z *d. Niebudek*) występuje jako pierwszy autor, ale w żadnej z nich nie pełni funkcji autora korespondującego. Doktorantka przedstawiła oświadczenia współautorów oraz swoje wskazujące na Jej wiodącą rolę zarówno w opracowaniu metodyki badań, wykonaniu doświadczeń, analizowaniu wyników, przygotowaniu rycin oraz opracowaniu wstępnej wersji manuskryptów, co świadczy o bardzo dużym zaangażowaniu i samodzielności Autorki. Jednocześnie, co należy podkreślić, skład autorski omawianych publikacji wskazuje na duże wsparcie naukowe i nadzór merytoryczny nad prawidłowym przebiegiem eksperymentów, których wyniki zawarte są w niniejszym cyklu publikacji.

Badania przeprowadzone w ramach ocenianej dysertacji były finansowane ze środków statutowych Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej oraz ze środków przeznaczonych na Zadania Badawcze Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Sumaryczny współczynnik IF wymienionych prac wynosi: 6,743, a łączna punktacja MEiN wynosi 155, zgodnie z punktacją za rok publikacji artykułów. Dodatkowo, co należy zauważyć, wyniki badań prezentowane w ramach niniejszego opracowania były również przedstawione w formie ośmiu komunikatów zjazdowych na krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych.

Oceniana rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Michalskiej została przygotowana w standardowym układzie, zgodnym z normami przyjętymi dla tego typu opracowań. Do powyższego zestawu publikacji stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora nauk farmaceutycznych Doktorantka dołączyła staranny komentarz, na który składają się kolejno: spis treści, wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, analiza bibliometryczna, wstęp zawierający teoretyczne wprowadzenie do tematu badania, cel i zakres pracy, opis wyników, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz bibliografia. Część opisowa rozprawy doktorskiej obejmuje 55 stron tekstu komputerowego i 87 pozycji piśmiennictwa, natomiast kopie artykułów stanowiących cykl zajmują 25 stron. Na końcu Kandydatka umieściła skany podpisanych oświadczeń wszystkich współautorów publikacji. Łącznie dysertacja stanowi 87 stron druku. Pod względem edytorskim cały test został przygotowany bardzo starannie, napisany jest poprawnym, bogatym językiem z zachowaniem właściwej terminologii. Na pochwałę zasługuje duża syntetyczność, systematyczność i przejrzystość wynikająca z właściwie przyjętej koncepcji przygotowania rozprawy. Dodatkowo szata graficzna pracy jest przyjemna dla oka i podnosi jej wartość estetyczną.

Ocena merytoryczna pracy

Tytuł przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej jest zgodny z tematyką artykułów wchodzących w skład cyklu publikacji i odzwierciedla ich zawartość.

W bardzo dobrze napisanym wprowadzeniu Autorka dokładnie uzasadnia podjętą tematykę badawczą. W tej części uwaga Doktorantki skupia się głównie na opisie jednostki chorobowej – szpiczaku mnogim (MM), będącym złośliwym nowotworem wywodzącym się z komórek plazmatycznych szpiku kostnego. Autorka przedstawia epidemiologię szpiczaka plazmocytozy, najczęstsze objawy oraz diagnostykę kliniczną. Szczególnie dużo uwagi poświęca wnikliwemu opisowi kryteriów stosowanych w ocenie ryzyka wystąpienia szpiczaka mnogiego i stopnia zaawansowania tej choroby. Wskazuje również na znaczącą rolę czynników genetycznych w predyspozycji do rozwoju tej choroby.

W kolejnym opisie Autorka wprowadza czytelnika w tematykę błonowych białek transportowych oraz zjawiska oporności wielolekowej. Drobiazgowo opisuje rolę transporterów błonowych w prawidłowym funkcjonowaniu wielu podstawowych procesów fizjologicznych zachodzących w komórkach. Wskazuje, że dysfunkcja transportu zarówno dokomórkowego jak i odkomórkowego przyczynia się do zwiększonego ryzyka wystąpienia uszkodzeń w obrębie komórki, prowadząc w konsekwencji do rozwoju procesu nowotworowego. W tej części Autorka skupia się na szczegółowym opisie wybranych transporterów z rodziny ABC i rodziny OATP oraz genów je kodujących. Wskazuje na zależność między polimorfizmami pojedynczych nukleotydów występującymi w genach kodujących te białka, a zmianami w budowie, funkcji i aktywności samych białek. Istnieją doniesienia literaturowe, które wskazują na możliwość wykorzystania polimorfizmów genetycznych, obecnych w genach kodujących transportery komórkowe, jako markerów prognostycznych zarówno dla ryzyka rozwoju chorób nowotworowych, jak i dla skuteczności stosowanej terapii przeciwnowotworowej. Uważam, że wszystkie zagadnienia opisane przez Autorkę w tym rozdziale są dobrze przedstawione, ułożone w logiczną całość i w pełni uzasadniają podjęcie pracy przez Doktorantkę nad zbadaniem roli wybranych polimorfizmów genów kodujących białka z nadrodziny ABC i rodziny OATP tj. glikoproteina – P, białko BCRP i OATP1B1 w określeniu ryzyka rozwoju oraz efektywności leczenia szpiczaka mnogiego. Z tego względu podjęta tematyka jest ważna zarówno z poznawczego punktu widzenia jak i potencjalnie aplikacyjnego. Zdecydowanie wpisuje się w aktualne trendy badań naukowych.

Szczegółowe cele badawcze założone przez Doktorantkę obejmowały analizę czterech polimorfizmów pojedynczego nukleotydu w obrębie trzech genów kodujących białka transportowe:

1. polimorfizm T-129C (rs3213619) w genie *ABCB1* kodującym glikoproteinę – P.
2. dwa polimorfizmy G34A (rs2231137) oraz C421A (rs2231142) w genie *ABCG2* kodującym białko BCRP.
3. oraz polimorfizm A388G (rs2306283) w genie *SLCO1B1* kodującym komórkowe białko OATP1B1.

Badaniami objęto pacjentów ze zdiagnozowanym szpiczakiem mnogim leczonych w Klinice Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 1992-2002. Grupę kontrolną stanowili dobrowolni dawcy oddający krew w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi. Na przeprowadzenie eksperymentów Pani mgr Katarzyna Michalska uzyskała wymagane zgody Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi.

Wyniki badań prezentowane przez Panią mgr Katarzynę Michalską zostały przedstawione w sposób uporządkowany i precyzyjny, zakończone jednoznacznymi wnioskami. Doktorantka na podstawie przeprowadzonych badań wykazała w przypadku analizy polimorfizmu T-129C genu *ABCB1* brak różnic w częstości występowania alleli pomiędzy pacjentami ze zdiagnozowanym szpiczakiem mnogim, a grupą kontrolną, co jasno wskazuje na brak powiązania tego polimorfizmu z ryzykiem zachorowania na szpiczaka mnogiego. Tożsame wyniki braku powiązania pomiędzy występowaniem poszczególnych genotypów a ryzykiem zachorowania na szpiczaka mnogiego wykazano po analizie kolejnych dwóch polimorfizmów: G34A genu *ABCG2* i A388G genu *SLCO1B1*. Natomiast co istotne Doktorantka wykazała znamienne statystyczną korelację pomiędzy występowaniem polimorfizmu pojedynczego nukleotydu C421A genu *ABCG2*, a zwiększonym ryzykiem zachorowania na szpiczaka mnogiego. Dodatkowo wykazała związek między występowaniem genotypu GG polimorfizmu A388G w genie *SLCO1B1* a dłuższym całkowitym czasem przeżycia pacjentów po zastosowaniu klasycznego schematu leczenia MP (melfalan, prednizon), czego nie zaobserwowano u pacjentów z jednym lub dwoma allelami A.

Czytając i oceniając prezentowaną rozprawę doktorską należy z pełnym przekonaniem podkreślić, że działania Doktorantki w zakresie prowadzenia badań naukowych są przemyślane i świadczą o umiejętności planowania eksperymentów. Na szczególną uwagę zasługuje opanowanie przez Kandydatkę nowoczesnego warsztatu badawczego, zwłaszcza technik biologii molekularnej, biologii komórki oraz biologii nowotworu. Opis uzyskanych wyników zawarty w pracach cyklu publikacji jest klarowny, świadczy o umiejętności realizacji przez Doktorantkę założonych celów badawczych. Profesjonalnie przygotowana przez Kandydatkę dokumentacja wyników zapewnia o ich wysokiej jakości i rzetelności. Również dyskusja

zawarta w publikacjach cyklu została bardzo dobrze przeprowadzona, oparta jest na odpowiedniej liczbie pozycji literaturowych. W tej części Doktorantka udowodniła doskonałą znajomość tematu, przygotowanie do prowadzenia badań i krytycznego podejścia do uzyskanych wyników.

Nie mam pytań do Doktorantki dotyczących tematyki badawczej rozprawy, ponieważ jest ona dobrze przedstawiona pod względem merytorycznym. W trakcie czytania samej rozprawy jak i cyklu publikacji, znajdowałam odpowiedzi na pojawiające się wątpliwości.

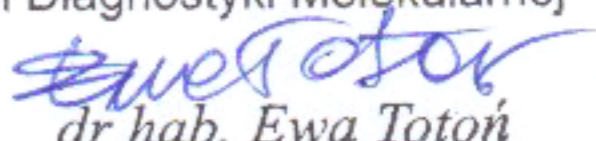
Pytanie 1. Z ciekawości Recenzenta proszę Doktorantkę o wypowiedź czy badane przez nią polimorfizmy (szczególnie SNP C421A w genie *ABCG2* i SNP A388G w genie *SLCO1B1*) lub inne występujące w literaturze mają zastosowanie kliniczne i są brane pod uwagę jako narzędzie do oceny ryzyka zachorowania, do diagnozowania pacjenta i do ustalania schematu leczenia.

Wnioski końcowe

Reasumując, rozprawę doktorską Pani mgr Katarzyny Michalskiej oceniam wysoko z uwagi na walory naukowe i użyteczne. Praca ta stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego postawionego w temacie dysertacji i zapewne przyczyni się do rozwoju reprezentowanej dyscypliny badawczej. Budzi nadzieję, że uzyskane wyniki mogą być pomocne w badaniach nad rozwojem nowych skuteczniejszych terapii dla pacjentów dotkniętych szpiczakiem mnogim. Dodatkowo biorąc pod uwagę zakres stosowanych samodzielnie przez Doktorantkę nowoczesnych technik biologii molekularnej stwierdzam, że Kandydatka posiada predyspozycje do samodzielnego prowadzenia badań naukowych w przyszłości.

Oświadczam, że recenzowana dysertacja w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 ze zm.) i w związku z tym, **przedkładam Radzie Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Michalskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Jednocześnie, mając na uwadze poziom naukowy przedmiotowej dysertacji, jej walory użyteczne oraz wysoki dorobek naukowy Doktorantki (9 publikacji, IF=31,689; MEiN=765) przedstawiam do Rady Nauk Farmaceutycznych wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Katedra i Zakład Chemii Klinicznej
i Diagnostyki Molekularnej

dr hab. Ewa Toton