



Warszawa 21.03.2019

Instytut Matki i Dziecka w Warszawie
Zakład Zdrowia Prokreacyjnego

**Recenzja rozprawy doktorskiej magister biologii, Pauliny Wilczyńskiej pt.
„Proteazy i antyproteazy w środowisku wewnątrzmacicznym rozwijającego się
płodu”**

wykonanej w Katedrze Biochemii i Chemii Klinicznej Wydziału Farmaceutycznego z
Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Promotor: dr hab. n. farm. Barbara Lisowska – Myjak

Promotor pomocniczy: dr n. farm. Ewa Skarżyńska

Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi spójny tematycznie cykl czterech publikacji dotyczących poszukiwania nowych biomarkerów przydatnych dla oceny środowiska wewnątrzmacicznego rozwijającej się ciąży. Temat pracy doktorskiej jak i wybór samego zagadnienia jest bardzo ciekawy ze względu na bardzo małą ilość danych literaturowych dotyczących środowiska wewnątrzmacicznego rozwijającej się ciąży. Tak jak zauważyła doktorantka we wstępie do swej pracy, czynniki epigenetyczne w środowisku wewnątrzmacicznym wpływają na strukturalne i funkcjonalne zmiany w rozwijającym się płodzie. Współczesna diagnostyka laboratoryjna na chwilę obecną nie wskazała, lub nie zostały jeszcze określone przez badaczy, charakterystyczne biomarkery pozwalające zinterpretować środowisko rozwijającego się płodu i wpływ tego środowiska na dalszy rozwój dziecka po porodzie.

W niniejszej rozprawie doktorskiej doktorantka zawarła - oprócz pracy przeglądowej dotyczącej aminopeptydaz łożyskowych w przebiegu ciąży (publikacja nr 2 MNiSW – 5 pkt) – wyniki badań opublikowanych w czasopismach znajdujących się na liście filadelfijskiej, gdzie jest albo pierwszym autorem (publikacja nr 1 IF 1.493, MNiSW 20 pkt) lub trzecim autorem prac (publikacje 3 i 4 odpowiednio IF 1,809 MNiSW 25 pkt. oraz IF 2,478 MNiSW 25 pkt.). Wszystkie cztery prace dotyczą tematu pracy doktorskiej, a łączna wartość IF publikacji wchodzących w skład niniejszej rozprawy wynosi 5,78 (75 pkt. MNiSW). Dodatkowo doktorantka zawarła w wykazie jak i dołączyła do recenzowanego doktoratu dwie nieopublikowane prace (NP1 i NP2), które zostały przesłane do recenzji i wstępnie zaakceptowane do druku przez czasopisma impaktowane a ich wyniki zawarte są we wnioskach doktoratu. Prace te dotyczą także zagadnienia, które jest podstawą prac wchodzących w skład cyklu pracy recenzowanej.

Rozprawa doktorska liczy 29 stron i obejmuje: wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim jak i angielskim, wprowadzenie, założenie i cel badań, etapy realizacji pracy doktorskiej, wykaz publikacji, wyniki badań nieopublikowanych, omówienie i podsumowanie wyników, wnioski doktorantki, bibliografię oraz załączone do rozprawy kopie publikacji opublikowanych jak i nieopublikowanych.

Tytuł pracy doktorskiej odpowiada tematyce analizowanych publikacji. Wysoki sumaryczny IF prac wskazuje, że badania zostały właściwie zaplanowane i przeprowadzone przez Autora, oraz reprezentują wysoki poziom naukowy, co zostało pozytywnie ocenione przez recenzentów czasopism. Wszystkie te prace są opracowaniami zbiorowymi, gdzie kandydatka jest pierwszym lub trzecim autorem. Wkład autorki niniejszej rozprawy został określony jako 40%,50%,20%,15% co znalazło potwierdzenie w oświadczeniach współautorów zawartych w dokumentach przesłanych do recenzji. Doktorantka odegrała czynną rolę w zaplanowaniu prac doświadczalnych będących przedmiotem tych publikacji, w opracowaniu i analizie otrzymanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptów. Badania zostały przeprowadzone za zgodą Komisji Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach działającej przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie.

W zwięzłym streszczeniu, zarówno w języku polskim jak i angielskim, doktorantka zawarła podsumowanie zagadnień omawianych oraz wnioski z przeprowadzonych badań. Są one poprawnie sformułowane i w pełni uzasadnione.

W rozdziale zatytułowanym „Wprowadzenie” autorka krótko i zwięźle opisała powody do zajęcia się tematem recenzowanej pracy, opisała rolę enzymów proteolitycznych i ich inhibitorów jako źródło nowych markerów laboratoryjnych dla

oceny wewnątrzmacicznego rozwoju płodu, przechodząc płynnie do opisu źródeł jak i funkcji enzymów proteolitycznych w środowisku wewnątrzmacicznym rozwijającej się ciąży. W kolejnym podpunkcie doktorantka wyczerpująco przedstawiła metody klasyfikacji i oceny enzymów proteolitycznych, którą to przeprowadziła w swoich publikacjach. Ostatnim elementem tego podrozdziału jest uzasadnienie wyboru smółki jako swoistego materiału klinicznego dla oceny wewnątrzmacicznego rozwoju płodu, która została przeprowadzona prawidłowo i z należytą starannością w oparciu o dostępne dane literaturowe.

Następnie doktorantka w swej pracy przedstawiła założenia i cel swej pracy. Głównym celem pracy było poszukiwanie nowych nieinwazyjnych biomarkerów wyłonionych spośród enzymów proteolitycznych zidentyfikowanych w smółce. Cel ten realizowano zgodnie z założeniami przez następujące zadania poznawcze i praktyczne:

1. Klasyfikacja rodzajów i funkcji biologicznych enzymów proteolitycznych i ich inhibitorów zidentyfikowanych w smółce noworodków metodą proteomiki zgodnie z obowiązującymi bazami danych.
2. Ocena całkowitej aktywności proteolitycznej w smółce.
3. Analiza aktywności aminopeptydaz w smółce.
4. Powiązanie indywidualnych właściwości aminopeptydazy N z białkami stanu zapalnego obecnymi w smółce.

Prace wchodzące w skład niniejszej rozprawy, są tematycznie spójne i szczegółowo opracowane. Metodyka i wyniki prac zostały już ocenione przez recenzentów czasopism, w których się ukazały i merytorycznie nie budzą żadnych zastrzeżeń.

Realizacja pracy doktorskiej została podzielona na pięć etapów a ich poszczególne wyniki zostały zaprezentowane w opublikowanych pracach (P3, P4, NP1, NP2). Dla realizacji tego celu przeprowadzono systematyczną analizę składu białek zawartych w smółce, ocenę całkowitej aktywności proteolitycznej wobec niespecyficznego substratu kazeiny oraz ocenę specyficznej aktywności aminopeptydazowej wobec 7-amino-4-methylcoumaryny jako substratu. Ocenę stężenia wybranej proteazy w smółce – aminopeptydazy N metodą ELISA powiązano z innymi białkami stanu zapalnego. Następnie zgodnie z klasyfikacją baz danych UniProt, BRENDA i MEROPS wyłoniono 68 enzymów proteolitycznych oraz 30 inhibitorów proteaz zawartych w smółce. W wyniku przeprowadzonych badań

doktorantka wykazała wzrost całkowitej aktywności proteolitycznej w przebiegu ciąży. Równoległe oznaczenie stężenia aktywnych proteaz i antyproreazy – alfa-1-antyrpsyny, wskazało na zachowaną homeostazę w środowisku rozwijającego się płodu. Na całkowitą aktywność aminopeptydazową składa się pula indywidualnych enzymów o specyficznych właściwościach biologicznych. Powiązanie właściwości aminopeptydazy N z białkami stanu zapalnego potwierdziło udział tej proteazy we wspólnych procesach patofizjologicznych w środowisku wewnątrzmacicznym.

Rozprawa doktorska zawiera piśmiennictwo obejmujące 28 pozycji literatury światowej, wymienione wg kolejności cytowania w tekście rozprawy. Literatura naukowa jest właściwie dobrana i cytowana przez doktorantkę. Dodatkowo piśmiennictwo zawarte jest w każdej z czterech prac doktorantki.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Pauliny Wilczyńskiej charakteryzuje się trafnością wyboru tematu. W analizowanym cyklu publikacji doktorantka wykazała się umiejętnością wykorzystywania dostępnej bibliografii oraz sformułowania celów zaplanowanych badań naukowych i wniosków z nich wypływających. Zawarty w rozprawie cykl prac jest spójny tematycznie i przyczynia się do lepszego poznania warunków panujących w środowisku wewnątrzmacicznym w trakcie ciąży. Praca ma dużą wartość poznawczą i skłania do prowadzenia dalszych badań w zespole. Należy zwrócić uwagę, że powyższe badania realizowane były dzięki finansowaniu z Narodowego Centrum Nauki w ramach programu OPUS 1 DEC-2011/01/B/NZ7/00648.

Z obowiązku recenzenta należy wymienić drobne uchybienia zauważone podczas lektury niniejszej rozprawy, takie jak błędy literowe czy interpunkcyjne, jednak nie zmniejszają one w żadnym stopniu wartości merytorycznej recenzowanej rozprawy.

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa mgr Pauliny Wilczyńskiej, spełnia wszystkie ustawowe wymogi i kryteria, jakim powinna odpowiadać praca na stopień doktora nauk medycznych. Zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej WUM w Warszawie, o dopuszczenie mgr Pauliny Wilczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie zgłaszam wniosek o wyróżnienie pracy, ze względu na nowatorski charakter tematyki podjętych badań, uzyskane wyniki oraz wysoką wartość sumaryczną cyklu publikacji zawartych w niniejszej rozprawie.

Prof. nadzw. IMiD. Dr hab. n med. Tadeusz Issat