

Kraków, 17 czerwca 2018

## **Recenzja pracy doktorskiej**

*Obrazowanie ramanowskie ludzkiej tkanki nowotworowej oraz nowotworowych i normalnych kultur komórkowych*

wykonanej przez Panią Monikę Kopeć  
Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny

Promotor pracy: Prof. dr hab. Halina Abramczyk, PŁ

Promotor pomocniczy: Dr inż. Jakub Surmacki, PŁ

Choć dużo już wiemy o chorobach nowotworowych, to wciąż diagnostyka wielu z nich jest wyzwaniem, szczególnie na wczesnym etapie choroby. Jest to problem cywilizacyjny, gdyż choroby nowotworowe są drugą główną przyczyną zgonów ludzi na świecie. Również mechanizmy rozwoju nowotworów i towarzyszące im zmiany biochemiczne w tkankach i komórkach nie są w pełni poznane, i z pewnością szersza wiedza na ten temat pomogłaby w zrozumieniu procesu chorobotwórczego, potencjalnej diagnostyki i leczenia.

Temat, który podjęła Pani Monika Kopeć w swej pracy doktorskiej dotyczy wymienionych wyżej kwestii, a mianowicie analizy spektroskopowej zmian nowotworowych. Cele badawcze zostały jasno sformułowane, a praca skupia się na pomiarze i analizie wycinków ludzkiego gruczołu piersiowego i ludzkiego gruczołu ślinowego, we współpracy z klinicystami z Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego i Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz specjalistami Laboratorium Medycznego Synevo. Uzupełnieniem tych badań jest charakterystyka linii komórkowych w różnym stadium rozwoju nowotworu.

Praca była realizowana pod opieką i w zespole Pani Profesor Haliny Abramczyk, wybitnej specjalistki od lat zajmującej się badaniami zmian nowotworowych z wykorzystaniem metod spektroskopii ramanowskiej i femtosekundowej. W świetle powyższego, wybór tematu jak i miejsce realizacji pracy doktorskiej jest w pełni uzasadnione.

## **OGÓLNA OCENA ROZPRAWY**

Recenzowana rozprawa liczy 198 stron, a dodatkowo zawiera wykaz publikacji, konferencji, projektów i zgłoszeń patentowych Doktorantki, co w sumie daje 214 stron.

Dorobek naukowy Pani Kopeć jest wyróżniający, obejmuje bowiem 10 publikacji z bazy *Journal Citation Reports* (JCR) o znaczącym współczynniku oddziaływania. Również aktywność konferencyjna jest ponadprzeciętna - a z zamieszczonego spisu wynika, że Doktorantka jest współautorką 33 prezentacji. Dodatkowo, kierowała dwoma projektami wydziałowymi oraz współtworzyła dwa zgłoszenia patentowe.

Praca doktorska ma klasyczny układ. Otwiera ją *Wprowadzenie, Cel i zakres pracy*, po czym następuje pięć rozdziałów *Części Teoretycznej*, i kolejne trzy *Części Doświadczalnej*. Całość zamykają *Wnioski, Streszczenie w j. polskim i angielskim, Literatura*.

*Cel* pracy obejmował kilka zagadnień badawczych, m.in. wykazanie, że zmiany nowotworowe wycinków ludzkiego gruczołu piersiowego i gruczołu ślinowego mogą być identyfikowane metodami spektroskopii ramanowskiej i AFM, oraz wykazanie, że metody te umożliwiają analizę biochemicznego składu linii komórkowych normalnych i nowotworowych.

Szeroko opisane zagadnienia w *Części Teoretycznej* dotyczyły etiologii i epidemiologii nowotworów, metod biologii systemowej oraz stosownych standardowo w analizie profilu omiczno zmienionego nowotworowo. Ponadto przedstawiono skrótowo metody eksperymentalne i chemometryczne, które były wykorzystane w pracy.

*Część doświadczalna* to opis przygotowania próbek do badań i protokołu pomiarowego, a następnie systematyczne przedstawienie wyników dla nowotworowych wycinków

ludzkiego gruczołu piersiowego i gruczołu ślinowego oraz dla kultur komórkowych. Ciekawe rezultaty przyniosły pomiary w świetle spolaryzowanym w płaszczyźnie prostopadłej i równoległej do płaszczyzny polaryzacji laserowej. Tkanka o utkaniu prawidłowym okazała się mieć niższy współczynnik depolaryzacji w porównaniu do tkanki zmienionej nowotworowo.

Praca została starannie wykonana, a uzyskane wyniki opisano szczegółowo. Uwiarygodniają je liczne publikacje z udziałem Doktorantki, które poddane były recenzji w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Potwierdzają one potencjał spektroskopii oscylacyjnej w analizie tkanek zmienionych nowotworowo, natomiast chyba za wcześnie jeszcze by na ich podstawie mówić o zastosowaniach w diagnostyce onkologicznej. Z całą pewnością wymaga to dalszych badań i być może Doktorantka zechce przedstawić ich wizję. Również zakres potencjalnego wykorzystania metod biologii systemowej jako referencyjnych w badaniach medycznych z użyciem spektroskopii wydaje się wciąż za mały. Może w czasie dyskusji będzie okazja o tym porozmawiać.

Należy podkreślić staranną edycję i oprawę graficzną, choć rysunki mogłyby być większe bo często trudno dostrzec różnice na widmach, które dyskutuje Doktorantka. Nie jest też dla mnie zrozumiałe co oznacza podpis „obraz Ramana” pod wieloma rysunkami (np. 65, 66 i wiele innych).

## **UWAGI SZEGÓŁOWE**

Z ciekawością przeczytałam pracę, a oto kilka pytań i komentarzy, które przedstawiam do dyskusji. Niektóre wymienione poniżej uwagi proszę pominąć w dyskusji, to tylko zwrócenie uwagi na pewne nieścisłości, które nie umknęły oku recenzenta:

1/ Na stronie 38 Doktorantka wymienia czułość, swoistość (i rozdzielczość) jako ważne parametry doboru danej techniki badawczej. Później w pracy pojawiają się określenia, a nawet wzór na czułość i specyficzność (strona 121, 214). Jak sądzę, specyficzność pojawiła się ze względu na angielskie określenie *specificity*, ale poprawne tłumaczenie to swoistość.

2/ W części wstępnej podano dużo na temat metod chromatograficznych, które nie były stosowane w pracy, w przeciwieństwie do histopatologii. Z kolei bardzo skrótowo opisano metody chemometryczne, które stanowiły podstawę analizy danych w pracy.

3/ Na rys 14, strona 63 trudno mi dostrzec różnicę pomiędzy polaryzacją promieniowania rozproszonego dla cząstki izotropowej i anizotropowej. Światło rozproszone wydaje się rozchodzić w tej samej płaszczyźnie na obu rysunkach.

4/ Ogólne pytanie dotyczące statystyki prowadzonych pomiarów. Nie znalazłam w części doświadczalnej informacji - ile tkanek i komórek zmierzono?

5/ Czy faktycznie można przypisać węglowodany, które Pani identyfikuje na stronach 92 i dalszych jako glikokaliks? Ta warstwa pokrywająca komórki jest bardzo cienka, wg mojej wiedzy liczy ok. 100 nm, stąd nawet w pomiarach naczyń *en face* identyfikacja glikokaliksu nie jest łatwa.

6/ Glikany na rys. 29 wydają się występować w tkance tam gdzie nie ma lipidów. Czy to zaskakująca obserwacja czy spodziewany wynik?

7/ Ciekawym wynikiem jest obserwacja wyższej ilości kwasów nienasyconych w tkance zmienionej nowotworowo. Czy może to mieć związek z procesami zapalnymi tam zachodzącymi czy jest tego inne wytłumaczenie?

8/ Czy badania z fotouczulaczem prowadzone na tkankach *ex vivo* dostarczają podobnej informacji gdy związek ten jest wprowadzony do organizmu *in vivo* i dopiero potem pobierana jest tkanka do badań?

9/ W pracy Doktoranta stosuje metodę analizy widm podstawowych. Ciekawi mnie jak Pani ocenia wiarygodność analizy prowadzonej po charakterystycznych pasmach?

10/ I jeszcze jedna myśl warta dyskusji, czy w przypadku pomiarów ramanowskich uzasadnione jest użycie podłoża CaF<sub>2</sub>? Dodam, że też takie stosujemy w laboratorium, ale genezą było prowadzenie badań zarówno ramanowskich jak i FT-IR, wydaje mi się, że nadużywamy wszyscy tego jakże drogiego podłoża, a można by stosować po prostu szkło.

Drobna dygresja, Doktorantka kilka razy we wstępie przytaczała Nagrody Nobla przyznane za osiągnięcia, które przyczyniły się do rozwoju metod, które opisywała. W

tej konwencji zabrakło mi odniesienia do Nagrody za konfokalny mikroskop (fluorescencyjny) przyznanej bardzo niedawno, bo w 2014 roku.

## **PODSUMOWANIE**

Rozprawa Pani Moniki Kopeć to wartościowe opracowanie, które w pełni spełnia wymagania ustawowe stawiane pracom doktorskim. Podejście metodyczne jest poprawne, łączy metody eksperymentalne i zaawansowaną analizę danych, oparte jest na najnowszej, bogatej literaturze i wiedzy.

Imponujący jest dorobek publikacyjny Doktorantki, zarówno pod względem liczebnym jak i wysokiej jakości prac. Są to publikacje związane tematycznie z rozprawą doktorską. Pani Kopeć tylko w jednej jest pierwszą autorką, ale w wielu z nich występuje w kolejności za swoją Promotorką/Promotorami, co świadczy o Jej znaczącym udziale w tych pracach. Sumaryczny dorobek naukowy obejmujący też doniesienia konferencyjne, udział w grantach i składanych patentach, świadczy o ponad przeciętnym zaangażowaniu, pracowitości i efektywności, ale też o bardzo wysokiej randze prowadzonych badań i ich umiędzynarodowieniu.

Podsumowując, złożona rozprawa spełnia w pełni wymagania stawiane pracom doktorskim określone w *Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* oraz w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 r. w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora*, **wnoszę o dopuszczenie Pani Moniki Kopeć do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie jej pracy.**

Z poważaniem,

*M. Barańska*