

Ocena dorobku naukowego, dydaktycznego i pracy habilitacyjnej Dr inż. Magdaleny Buszewskiej-Forajta.

Dr inż. Magdalena Buszewska-Forajta urodziła się 20 grudnia 1987 roku w Lublinie. Jednolite studia magisterskie na kierunku Biotechnologia Wydział chemiczny Politechniki Gdańskiej ukończyła w 2011 roku z oceną bardzo dobrą, uzyskując tytuł Magistra Inżyniera biotechnologii. W 2015 roku Rada Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego po obronie pracy doktorskiej „Identyfikacja składników odwłoka owadów z rodziny szarańczowatych w oparciu o przesłanki etnofarmakologiczne” nadała tytuł Doktora nauk farmaceutycznych w dyscyplinie analizy farmaceutyczne. Promotorem rozprawy był prof. Dr hab. Roman Kaliszan. W latach 2016-2021 pełniła kolejno obowiązki Specjalisty, Asystenta, Adiunkta naukowego w Katedrze Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydziału farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Obecnie pełni obowiązki Adiunkta naukowego w Katedrze Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego oraz Adiunkta naukowo-dydaktycznego w Instytucie Medycyny Laboratoryjnej Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika.

Dorobek naukowy Dr inż. Magdaleny Buszewskiej- Forajta nadesłany do oceny obejmuje cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, stanowiących osiągnięcie naukowe i składa się z 8-iu prac (oznaczonych symboliką od H1 do H8) opublikowanych w latach 2019-2022 w czasopismach z listy Journal Citation Reports (JCR). We wszystkich pracach Habilitantka była pierwszym Autorem, zaś w 5 pełniła funkcję Autora korespondencyjnego. Impact Factor przed obroną doktoratu wynosił (IF=20,604), po obronie doktoratu IF=90,832, zaś sumaryczny IF=111,436. Liczba cytowań publikacji, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań według bazy Scopus zamykał się liczbą 250, a według bazy Web of Science Core Collection wynosił 211. Sumaryczna liczba punktów MNiSW wynosił 2615 (przed obroną doktoratu 530) a po obronie doktoratu 2085.

Przedstawione prace obejmują zagadnienie wykorzystania metabolomiki w poszukiwaniu deskryptorów raka prostaty z wykorzystaniem łączonych technik analitycznych sprzężonych ze spektrometrią mas jak również zaawansowanych wielkoskalowych metod bioinformatyczno chemometrycznych. Przedłożony cykl artykułów naukowych jest odpowiedzią na wyżej przedstawione problemy badawcze i obejmuje realizację celów naukowych takich jak: opracowanie nowatorskich metod przygotowania próbek biologicznych (ejakulat, skrawki parafinowe) do analiz metabolomicznych (H1-H3, H6-H8). Zebrane informacje stały się podstawą naukową do opracowania procedury przygotowania skrawek parafinowych, jako innowacyjnej matrycy do niecelowanej analizy metabolomicznej. Tematem przewodnim badań naukowych wskazanych przez Habilitantkę jako osiągnięcie naukowe i przedstawione w publikacjach H2 i H3 było opracowanie protokołu przygotowania próbki tkanki, a następnie wdrożenie tego protokołu do analizy metabolomicznej w celu poszukiwania wskaźników (deskryptorów) raka prostaty.

Szczególne znaczenie poznawcze ma praca oznaczona jako H2. Na podkreślenie zasługuje fakt, że jak do tej pory niewiele prac dotyczy zastosowania tego materiału w analizie metabolomicznej. Badania przedstawione w osiągnięciu H2 należą do pionierskich w zakresie zastosowania tego typu matrycy do badań metabolomicznych. Uzyskane dane analityczne, poparte analizą statystyczną umożliwiły Autorce opracowanie innowacyjnej procedury przygotowania skrawek parafinowych do analiz metabolomicznych (H2). Opracowaną procedurę Autorka zastosowała do analiz próbek rzeczywistych pochodzących od pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem prostaty. Wyselekcjonowała w ten sposób dwa specyficzne deskryptory (kwas cytrynowy oraz grupę kwasów tłuszczowych), które posłużyły do niecelowanej analizy lipidomicznej. Z tego powodu niecelowana analiza lipidomiczna może być cennym narzędziem do charakterystyki metabolomu raka prostaty. Pozwala też zidentyfikować nowe czynniki biochemiczne, które mogą mieć znaczenie dla szybkiej diagnozy lub prognozy raka prostaty. Badania w ramach osiągnięcia H3 miały na celu oznaczenie profilu kwasów tłuszczowych w skrawkach parafinowych tkanki prostaty. Niezaprzeczalną zaletę wykorzystania skrawków parafinowych tkanki jest ich trwałość i z tego powodu procedura utrwalania tkanek w parafinie jest preferencyjna w porównaniu do zamrażania i umożliwia bezpośrednią ocenę histopatologiczną. Dzięki temu uzyskane wyniki ściśle obrazują zmiany zachodzące wskutek rozwoju choroby nowotworowej. Pionierskim podejściem tych badań było jednoczesne przeprowadzenie analiz metabolicznych oraz ocena histologiczna skrawków parafinowych tkanki w celu oznaczenia specyficznego profilu metabolicznego raka prostaty. Niecelowana analiza lipidomiczna (H3) umożliwiła wyselekcjonowanie trzech kwasów tłuszczowych jako potencjalnych deskryptorów (oznaczników) raka prostaty (kwas 9-oktadekanowy, 9,12-oktadekadienowy oraz 5,8,1,14-eikozatetraenowy). Według Autorki w praktyce związki te można uznać za specyficzne markery biochemiczne o potencjale diagnostycznym. Zaliczam to osiągnięcie do wymiernego efektu podjętego problemu przez Autorkę. Tym bardziej jest to istotne, że podwyższony poziom kwasów tłuszczowych w przypadku rozwoju raka prostaty może wpływać nie tylko na wzmożoną syntezę kwasów tłuszczowych, co było udowodnione w osiągnięciu H3 ale również zaburzać biosyntezę i transformację lipidów (cyt. z pracy Autorki). W kolejnych osiągnięciach H4 Autorka zestawia dane literaturowe opisujące wykorzystanie techniki laserowej desorpcji do poszukiwania swoistych wskaźników raka prostaty. Zestawienie przedstawione w H4 było wstępem teoretycznym do badań prezentowanych w osiągnięciu H5, którego przedmiotem było oznaczenie profilu jakościowego i ilościowego fosfolipidów w tkance prostaty. Innowacyjnym podejściem w zakresie osiągnięcia H5 było wykorzystanie laserowej jonizacji próbki wspomaganą matrycą z detektorem czasu przelotu MALDI-TOF/MS. Technika ta umożliwiła przeprowadzenie obrazowania fosfolipidów charakterystycznych dla raka prostaty. Zastosowanie dwóch komplementarnych technik analitycznych miało na celu identyfikację fosfolipidów, które mogą potencjalnie służyć jako prognostyczne oznaczniki diagnostyczne raka prostaty. W tym celu 80 próbek świeżej tkanki zostało pobranych od pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem prostaty (n=40) oraz łagodnym przerostem prostaty (n=40). Zastosowanie dwóch komplementarnych technik

umożliwiło Autorce uzyskanie charakterystycznego dla raka prostaty profilu fosfolipidów, których monitorowanie może być kluczowe do diagnostyki raka prostaty w szczególności we wczesnym bezobjawowym stadium choroby. Kontynuacją badań były eksperymenty opisane jako osiągnięcie H6. Celem osiągnięcia H6 było opracowanie i optymalizacja protokołu przygotowania próbki oraz metody (MALDI-TOF/MS -technika jonizacji wzbogaconej matrycą sprzężonej ze spektrometrią mas z analizatorem czasu przelotu) do oznaczenia profilu lipidomicznego w próbkach moczu. Materiał badawczy stanowiło 139 pacjentów od których pobrano materiał biologiczny. Próbki te sklasyfikowano w odniesieniu do skali Gleason oraz skali pTMN. Przeprowadzona analiza wykazała silną dodatnią korelację między lipoproteinami o niskiej gęstości (LDL) i całkowitym poziomem cholesterolu oraz umiarkowaną ujemną korelację między lipoproteinami o wysokiej gęstości i całkowitym poziomem trójglicerydów (TGS). Wyniki badań wskazują, że zmiana profilu lipidomicznego jest nie tylko konsekwencją rozwoju nowotworu, ale jest również specyficzna w odniesieniu do stopnia zaawansowania choroby. Analiza korelacji z późnym stadium raka umożliwia identyfikację PC (fosfatydylocholiny) i LPC (lisofosfatydylocholiny). Związki te mogą brać udział w procesie utleniania lipidu, a zjawisko to może być nasilone w komórce rakowej i powodować degradację lipidów. Zastosowana technika MALDI-TOF/MS wydaje się obiecującym narzędziem w diagnostyce i prognozowaniu raka prostaty poprzez analizę profilu lipidowego. Wiele badań w poszukiwaniu biomarkerów raka prostaty przeprowadzono z wykorzystaniem osocza lub moczu, ale tylko nieliczne koncentrowały się na analizie płynu nasiennego. Dlatego też głównym celem osiągnięcia H8 była charakterystyka metaboliczna nasienia jako alternatywnej matrycy biologicznej dedykowanej analizie metabolicznej. Pionierskim podejściem w badaniach było określenie profilu metabolicznego ejakulatu, przygotowanie protokołu, opracowanie oraz przygotowanie próbki w celu charakterystyki tego materiału biologicznego (H8). Autorka przeprowadziła badania metabolomu nasienia a wyniki porównała z metabolomem osocza i moczu oznaczonych od tych samych pacjentów. Osiągnięcie to wpisuje się w najnowsze trendy analizy metabonomicznej i jest jednym z pierwszych badań na świecie, w którym próbki ejakulatu zostały przeanalizowane przy użyciu podejścia metabonomicznego i porównane z dwiema innymi macierzami. Dzięki przeprowadzonym analizom możliwa jest weryfikacja hipotezy o zwiększonym poziomie metabolitów w próbkach ejakulatu, który można powiązać z rozwojem raka prostaty. Wymiernym efektem podjętego problemu przez Autorkę jest oznaczenie specyficznego profilu metabolicznego nasienia. Głównym celem osiągnięcia H8 było określenie stężenia kwasu cytrynowego w trzech różnych matrycach (tkance, moczu i krwi) pobranych od pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem prostaty jak również od grupy kontrolnej z łagodnym przerostem prostaty. Po raz pierwszy metabolit ten został oznaczony w trzech różnych matrycach. Przyjmuje się, że kwas cytrynowy jest potencjalnym deskryptorem raka prostaty a potwierdzenie tej hipotezy mogłoby w znaczny sposób poprawić diagnostykę raka prostaty we wczesnym stadium choroby. Dzięki przeprowadzonym przez Autorkę badaniom można określić przydatność kwasu cytrynowego jako wczesnego wskaźnika raka prostaty. Autorka wykazała, że w praktyce oznacza to,

że im wyższy stopień zaawansowania raka prostaty tym niższe stężenie kwasu cytrynowego w ekstrakcie tkankowym (H7, H8). W przypadku oceny Gleason stężenie kwasu cytrynowego rośnie do Gleason=7. Uzyskane wyniki wskazują na potencjał kwasu cytrynowego jako deskryptora molekularnego raka prostaty o znaczenie klinicznym. Autorka zwraca również uwagę na związek między poziomem androgenów z cholesterolem. Monitorując zmiany poziomu cholesterolu i jego frakcji, można zweryfikować hipotezę o jego wpływie na kancerogenezę. Uzyskane wyniki wskazują na podwyższony poziom cholesterolu i frakcji HDL u pacjentów z rakiem prostaty.

Dorobek naukowy Dr inż. Magdaleny Buszewskiej-Forajta jest bardzo wartościowy, innowacyjny, zawiera wiele walorów praktycznych. Większość prac została wykonana na dużym materiale klinicznym, większość prezentowanych do oceny prac ma charakter doświadczalno-kliniczny. Dominująca w nim tematyka koncentruje się na kilku głównych i zasadniczych kierunkach. Za największe osiągnięcie rozprawy uznać można:

- 1 Opracowanie uniwersalnej metody przygotowania skrawek parafinowych oraz ejakulatu jako innowacyjnych matryc do badań metabolomicznych.
- 2 Pionierskie zastosowanie skrawek parafinowych oraz ejakulatu do charakterystyki lipidomu raka prostaty.
- 3 Opracowanie nowatorskiej platformy bioanalitycznej do rozpoznania patomechanizmu raka prostaty poprzez:
 - a) charakterystykę profilu lipodomicznego za pomocną niecelowanej analizy lipodomicznej.
 - b) wyselekcjonowanie fosfolipidów jako specyficznych deskryptorów raka prostaty z wykorzystaniem celowanej analizy lipodomicznej w próbkach tkanki oraz moczu.
 - c) oznaczenie kwasu cytrynowego jako specyficznego wskaźnika raka prostaty.
- 4 Zaproponowanie mechanizmów jonizacji fosfolipidów z zastosowaniem platformy analitycznej MALDI-TOF/MS (technika jonizacji wzbogaconej matrycą sprzężonej ze spektrometrią mas z analizatorem czasu przelotu). Na szczególnie podkreślenie zasługuje fakt, że uzyskane wyniki dostarczyły wiedzy na temat patomechanizmu raka prostaty, umożliwiły selekcję potencjalnych deskryptorów choroby.

Działalność dydaktyczno-wychowawcza i organizacyjna Dr inż. Magdaleny Buszewskiej-Forajta koncentruje się wokół trzech form działalności. Pierwsza z nich dotyczy prowadzenia zajęć dydaktycznych dla studentów Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (Tabela 5. str. 62) druga, roli promotora pomocniczego lub sprawowanie opieki naukowej nad pracami doktorskimi (Tabela 6. str. 63) oraz opieka naukowa nad pracami dyplomowymi na stopień magistra (Tabela 7. str.63). Habilitantka pełniła funkcję w Komitecie Organizacyjnym międzynarodowych konferencji: 12 th International Symposium on Chromatography organizowanym przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu. Uczestniczyła też w konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym organizowanym przez

Gdański Uniwersytet Medyczny. Od 2021 roku jest też członkiem Komisji ds. Utworzenia nowego kierunku studiów na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu. Prowadziła wykłady dla Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych oraz Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego jak również w ramach seminarium naukowego pt. "Przyszłość leczenia. Jak nowe technologie rewolucjonizują opiekę medyczną" na Expo 2022 w Dubaju. Równie bogata jest lista nagród i wyróżnień, które otrzymała Habilitantka, a które świadczą o wielkim zaangażowaniu naukowym i umiejętnościach twórczych. Wyrazem tego są stypendia naukowe Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego dla najlepszych doktorantów Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Osiągnięcia te uzupełniają nagrody za najlepsze wystąpienia ustne na konferencjach i prezentacjach posterowych oraz Granty dla Młodych Naukowców.

Każda choroba wywiera wpływ na wszystkie procesy biochemiczne, które zachodzą w organizmie żywym. Poprzez monitorowanie przebiegu poszczególnych szlaków biochemicznych jesteśmy w stanie zidentyfikować zmiany zachodzące na poziomie molekularnym. Pomimo licznych badań niewiele metabolitów zostało uznanych jako istotne z punktu widzenia klinicznego i wprowadzono do codziennej diagnostyki. Dlatego też strategia badawcza oparta na wykorzystaniu kilku technik analitycznych, które proponuje Habilitantka ma niezmiernie ważne znaczenie poznawcze i praktyczne. Tytuł pracy habilitacyjnej "Metabolomika- nowe narzędzie analityczne w poszukiwaniu deskryptorów molekularnych raka prostaty" w pełni oddaje obszar poszukiwań mechanizmów chorób nowotworowych i cywilizacyjnych. Szczególne znaczenia nabiera praca habilitacyjna poświęcona rakowi prostaty, ze względu na mało specyficzne symptomy, a często bezobjawowy rozwój choroby. Uzyskanie rzetelnej diagnozy wymaga zatem przeprowadzenia dodatkowych badań. Aktualnie podstawowym badaniem przesiewowym jest oznaczenie specyficznego antygenu prostaty (PSA, ang. prostate specific antigen) w próbce surowicy. Należy jednak podkreślić, że ogólnie przyjmuje się PSA jako niezaprzeczalny antygen tkankowo specyficzny, ale nie do końca jest on swoistym biomarkerem raka prostaty. W efekcie oznaczenia tego parametru nie daje jednoznacznej odpowiedzi w kierunku rozpoznania raka prostaty. Tym bardziej, że podwyższony poziom PSA obserwuje się w wielu innych stanach i może być konsekwencją odpowiedzi komórkowej na łagodny przerost gruczołu krokowego, stanów zapalnych prostaty, infekcją dróg moczowych czy chociażby procedurom cewnikowania. Pomimo postępów w medycynie, u wielu pacjentów rozpoznanie raka prostaty jest opóźnione z powodu trudności diagnostycznych, niepokoju związanego z biopsją prostaty. Pacjenci często opóźniają wizytę u lekarza i w konsekwencji są zdiagnozowani w zaawansowanym stadium choroby. Z tego względu konieczne jest poszukiwanie nowych nieinwazyjnych metod diagnostycznych oraz specyficznych testów prognostycznych, które umożliwiają szybką i precyzyjną diagnostykę w kierunku raka prostaty. Kierując się dobrem chorego Habilitantka postawiła sobie jako główny cel poszukiwanie specyficznych wskaźników (deskryptorów) raka prostaty prowadzących do rozpoznania patomechanizmu tej jednostki chorobowej, która w naszym kraju została uznana za najczęściej występujący typ raka u mężczyzn, a liczba ta jest porównywalna do zdiagnozowanych przypadków raka płuc (18079 przypadków raka prostaty do 18277

przypadków raka płuc).

Przedstawiony do oceny dorobek naukowo- badawczy jak również wykaz osiągnięć dydaktyczno- wychowawczych i organizacyjnych stanowiących dokumentację habilitacyjną wnioskodawczynie

Dr inż. Magdaleny Buszewskiej-Forajta upoważnia do stwierdzenia, że pretendenta jest badaczem kompetentnym w temacie "Metabolomika - nowe narzędzia analityczne w poszukiwaniu deskryptorów molekularnych raka prostaty".

Ukoronowaniem wysiłku i dorobku naukowego Autorki jest przedstawiona praca, która w pełni odpowiada warunkom na stopień doktora habilitowanego.

Równocześnie z pracą naukowo-badawczą Dr inż. Magdalena Buszewska-Forajta od wielu lat prowadzi działalność dydaktyczną i popularyzatorską. Dorobek naukowy i rozprawa habilitacyjna spełniają wymogi stawiane samodzielny pracownikom nauki. Biorąc pod uwagę całokształt działalności naukowej i dydaktycznej mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Naukowej Uniwersytetu

Warmińsko-Mazurskiemu w Olsztynie Collegium Medicum Wydziału Lekarskiego wniosek o dopuszczenie Dr inż. Magdaleny Buszewską- Forajta do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego. Wnioskuje również z uprzejmą prośbą o nagrodę i wyróżnienie pracy jak również o opublikowanie streszczenia bądź kilku artykułów w czasopismach urologicznych takich jak: "Przegląd Urologiczny" (dwumiesięcznik Polskiego Towarzystwa Urologicznego) oraz w "Central European Journal of Urology".

Kierownik
Oddziału Urologii i Transplantacji Nerek
J. Matych
Prof. dr hab. n. med. Józef Matych