



UNIwersytet MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

Białystok, 27.04.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr farm. Elizy Marii Matuszewskiej

*pt. „Zastosowanie spektrometrii mas do charakterystyki wybranych produktów pszczelich
oraz do proteomicznych analiz wpływu jadu owadów błonkoskrzydłych
na organizm ludzki”*

Oceniana rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk farmaceutycznych ma formę zbioru czterech pełno-tekstowych, spójnych tematycznie publikacji wieloautorskich. W trzech z nich mgr Eliza Maria Matuszewska jest pierwszym autorem, w jednej trzecim. Prace te opublikowano w latach 2019-2021 w specjalistycznych, recenzowanych czasopismach o łącznym współczynniku wpływu IF 15,858, punktacji MEiN 450. Kopie prac zamieszczono w dysertacji. Pani Magister przedstawiła oświadczenia współautorów dotyczące ich udziału w badaniach zawartych w publikacjach. Wynika z nich jednoznacznie, że udział mgr Elizy M. Matuszewskiej w ich przygotowaniu był dominujący. Ponadto Doktorantka przedstawiła oświadczenie o samodzielnym przygotowaniu rozprawy, nienaruszeniu praw autorskich oraz niewykorzystaniu przedstawionych badań do ubiegania się o nadanie dyplomu doktorskiego innej osobie. Na przeprowadzenie badań uzyskano pozwolenie Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała Komisji numer 288/21). Promotorem Doktorantki jest znakomity specjalista z zakresu analityki farmaceutycznej - profesor Jan Matysiak, kierownik Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Część opisową pracy liczącą 28 stron rozpoczyna wykaz prac stanowiących rozprawę doktorską. Kolejny rozdział stanowi krótki opis aktywności naukowej Doktorantki. Następne



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

Pani Magister przedstawiła charakterystykę produktów pszczelich oraz metod wykorzystanych do realizacji badań stanowiących rozprawę doktorską. Sposób przygotowania wstępu wskazuje na umiejętność Doktorantki posługiwania się literaturą naukową i jej wykorzystania do tworzenia tez badawczych.

Produkty pszczele z uwagi na unikalną zawartość składników bioaktywnych, odżywczych oraz makro- i mikroelementów są stosowane jako preparaty do zapobiegania i terapii wielu schorzeń. Jednakże, mogą być źródłem substancji silnie alergizujących, a jad pszczoł może powodować reakcje anafilaktyczne zagrażające życiu. Jako substancje naturalne mogą być także źródłem zanieczyszczeń toksycznych pochodzących ze środowiska. Z uwagi na bardzo złożony skład chemiczny mechanizmy działania biologicznego poszczególnych preparatów pszczelich są nie do końca wyjaśnione.

Jako cele badawcze Doktorantka wyznaczyła cztery obszary: charakterystykę składu białkowo-peptydowego mleczka pszczelego, oznaczenie zawartości pierwiastków chemicznych w mleczku pszczelim, pyłku pszczelim i propolisie, analizę wpływu jadu pszczelego na błony komórkowe oraz zmiany w proteomie pacjentów uczulonych na jad błonkoskrzydłych. Zadania wskazane przez Panią Magister w sposób jasny określają kierunki badawcze. Zaproponowane badania nad składem i właściwościami biologicznymi produktów pszczelich uważam za ważne z poznawczego oraz praktycznego punktu widzenia.

Jako metody badawcze Doktorantka wykorzystwała zaawansowane techniki przygotowania próbek (ekstrakcję do fazy stałej, wyrównywanie stężeń), nowoczesne metody spektrometrii mas (chromatografię cieczową w skali nano w połączeniu ze spektrometrią mas typu MALDI-TOF/TOF, spektrometrię mas sprzężoną z plazmą wzbudzaną indukcyjnie) oraz szeroki wachlarz narzędzi bioinformatycznych i statystycznych.

Doktorantka dokonała charakterystyki składu białkowo-peptydowego mleczka pszczelego identyfikując 86 białek taksonomicznie zaklasyfikowanych do rodzaju pszczoł. Wśród nich, 74 białka zidentyfikowała w próbkach poddanych wstępnemu przygotowaniu z wykorzystaniem techniki wyrównywania stężeń. W próbach analizowanych z pominięciem zagęszczania frakcji proteomicznej zidentyfikowała natomiast tylko 50 białek. Uzyskane wyniki



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

dowodzą użyteczności zaproponowanej techniki jako sposobu przygotowania próbek pochodzenia naturalnego znacząco poprawiającego możliwości identyfikacyjne spektrometru mas.

W wyniku analizy elementarnej pyłku pszczelego, propolisu i mlecza pszczelego Doktorantka wykazała, że stężenia analizowanych pierwiastków, w tym makro- i mikroelementów oraz zanieczyszczeń w tych produktach pszczelich różnią się w zależności od rodzaju produktu i roku zbioru. Uzyskane wyniki z uwagi na zidentyfikowaną zawartość metali ciężkich wskazują na konieczność opracowania standardów jakości omawianych produktów.

Wyniki analiz wpływu wybranych alergenów zawartych w jadzie pszczelim (melityny, tertiapiny i apaminy) na cienie ludzkich erytrocytów potwierdziły zależną od stężenia aktywność lityczną melityny. W próbkach inkubowanych z apaminą w stężeniu 10^{-9} M i tertiapiną w stężeniach 10^{-9} - 10^{-7} M Doktorantka zaobserwowała natomiast obniżenie stopnia hemolizy, co może wskazywać na działanie ochronne i stabilizujące apaminy i tertiapiny na błony komórkowe. Analizy proteomu cieni erytrocytów po inkubacji z peptydami wykazały, że największe zmiany w profilach białkowo-peptydowych błon komórkowych wywołane są działaniem apaminy. Otrzymane wyniki wykazały ponadto, że metoda oparta na chromatografii cieczowej nanoLC w połączeniu ze spektrometrią mas typu MALDI-TOF/TOF zapewnia szybką i dokładną analizę składu białkowego błon komórkowych, w tym cieni erytrocytów.

Porównanie profili białkowo-peptydowych surowicy krwi pacjentów uczulonych na jad owadów błonkoskrzydłych i osób zdrowych wskazały cztery białka statystycznie istotnie różnicujące badane grupy: łańcucha alfa fibrynogenu, składowej C4-A dopełniacza, ciężkiego łańcucha H4 inhibitora inter-alfa- trypsyny oraz łańcucha A czynnika koagulacji XIII. Wszystkie zidentyfikowane białka uczestniczą w odpowiedzi zapalnej, co znajduje potwierdzenie w IgE-zależnym mechanizmie powstawania reakcji alergicznej. Badania Doktorantki w tym zakresie umożliwiły wytypowanie potencjalnych wskaźników reakcji alergicznej.



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

Cztery wnioski końcowe stanowią spójne i syntetyczne podsumowanie uzyskanych wyników. Wykaz piśmiennictwa cytowanego w rozprawie liczy 55 pozycji, w tym 47 z ostatnich 10 lat. Ponadto w pracy numer jeden zacytowano 73 pozycji, w drugiej – 111, trzeciej – 53, czwartej – 31. Literatura została prawidłowo dobrana, odzwierciedla aktualny stan wiedzy w zakresie tematyki doktoratu. Cytowanie tak dużej ilości najnowszych prac świadczy o dobrej znajomości Pani Magister materiału z zakresu przedmiotu rozprawy doktorskiej.

Streszczenia w języku polskim i angielskim, które kończą część opisową pracy dobrze oddają treść rozprawy. Edytorska strona pracy nie budzi wątpliwości. Dysertacja została napisana starannie, poprawnym językiem w sposób jasny i zrozumiały nawet dla czytelników nie będących specjalistami z zakresu analityki farmaceutycznej.

Rozprawa doktorska jest efektem realizacji zainteresowań i pracy badawczej mgr farm. Elizy Marii Matuszewskiej rozpoczętych już w trakcie studiów. Pani Magister prowadziła badania w ramach Studenckiego Koła Naukowego Proteomiki i Metabolomiki. Z wynikiem bardzo dobrym obroniła pracę magisterską pt. „Proteomiczna analiza reakcji alergicznej na jad pszczele”. W roku 20017 rozpoczęła pracę w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w zespole proteomiczno-metabolicznym. Jej dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje czternaście prac o współczynniku wpływu IF 50,740 i punktacji MEiN 1530. Mgr farm. Eliza Maria Matuszewska jest więc doświadczonym, utalentowanym młodym naukowcem o znaczącym dorobku naukowym, świadomie rozwijającym karierę naukową. Cenne jest planowanie przez Doktorantkę nawiązania współpracy międzynarodowej oraz staż w zagranicznej renomowanej jednostce badawczej.

Rozprawę doktorską mgr farm. Elizy Marii Matuszewskiej oceniam bardzo pozytywnie, uważam, że w pełni spełnia wymogi ustawowe stawiane rozprawom doktorskim. Doktorantka zrealizowała założone cele badawcze. Dysertacja jest wartościową pracą pod względem teoretycznym oraz posiada charakter aplikacyjny. Mam zaszczyt przedstawić Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Zakład Analizy i Bioanalizy Leków
15-222 Białystok, ul. Adama Mickiewicza 2d
Tel: (85)7485735

wniosek o dopuszczenie mgr farm. Elizy Marii Matuszewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na wysoką wartość badań zawartych w dysertacji przedstawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr farm. Elizy Marii Matuszewskiej pt. „Zastosowanie spektrometrii mas do charakterystyki wybranych produktów pszczelich oraz do proteomicznych analiz wpływu jadu owadów błonkoskrzydłych”.

Z poważaniem,

prof. dr hab. Wojciech Miłyk