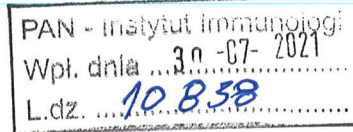




**Łukasiewicz**  
PORT  
Polski Ośrodek  
Rozwoju  
Technologii

dr hab. inż. Jakub Siednienko  
Zespół Badawczy Bioinżynierii

Wrocław dn. 29 lipca 2021



**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Kingi Gostomskiej-Pampuch pt.: „Identyfikacja i właściwości niekonwencjonalnych produktów zaawansowanej glikacji występujących w surowicy ludzkiej.”**

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Magdaleny Staniszwskiej

w Laboratorium Mikrobiologii Lekarskiej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Kingi Gostomskiej-Pampuch dotyczy badań nad końcowymi produktami zaawansowanej glikacji tzw. AGE (ang. Advanced Glycation End-products). Produkty glikacji mogą powstawać endogennie w organizmie w wyniku reakcji rozmaitych metabolitów, mogą być również pobierane z zewnątrz, chociażby z termicznie przetwarzanej żywności. Trwałe agregaty mogą kumulować się w organizmie i zaburzać jego homeostazę. Nasiloną glikacja towarzyszy również chorobom metabolicznym np. cukrzycy czy miażdżycy. Zatem pogłębienie wiedzy w tym zakresie ma nie tylko wartość poznawczą, ale i potencjał aplikacyjny, ponieważ może przyczynić się do opracowania testów diagnostycznych.

Recenzowana rozprawa liczy 122 strony maszynopisu, w tym: wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję wyników, wnioski, literaturę (liczącą 204 pozycje, obejmujące najnowsze doniesienia), streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz stosowanych skrótów, spis rysunków i tabel oraz osiągnięcia naukowe. Napisana jest w układzie typowym dla rozpraw doktorskich, poprawnym językiem naukowym, rzeczowo przedstawione są zagadnienia teoretyczne oraz wyniki badań. We wstępie Doktorantka zwięźle, ale wyczerpująco wprowadza czytelnika w tematykę powstawania końcowych produktów zaawansowanej glikacji, ich klasyfikacji oraz implikacji związanych z ich akumulacją w organizmie. Wstęp prowadzi do sformułowania celu pracy, w którym Doktorantka jasno precyzuje założenia badawcze. Rozdział „Materiały i metody” przedstawia procedury badawcze opisane w sposób rzetelny i wyczerpujący. Następujące po sobie rozdziały „Wyniki” i „Dyskusja wyników” stanowią główną część pracy, w której Doktorantka przedstawiła rezultaty przeprowadzonych eksperymentów, a następnie dyskutuje je w oparciu o dostępne dane literaturowe. Część merytoryczną pracy podsumowują cztery wnioski, poparte wynikami przeprowadzonych doświadczeń. Rozprawę kończy rozdział „Osiągnięcia naukowe”, w którym Doktorantka przedstawiła listę publikacji własnych obejmującą aż osiem prac oryginalnych (w jednej Doktorantka jest pierwszym autorem) oraz dwa patenty.

**Strona 1 z 3**

Sieć Badawcza Łukasiewicz – PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii  
54-066 Wrocław, ul. Stabłowicka 147, Tel: +48 71 734 77 77, Fax: +48 71 720 16 00  
E-mail: biuro@port.lukasiewicz.gov.pl | NIP: 894 314 05 23, REGON: 386585168  
Sąd Rejonowy dla Wrocławia – Fabrycznej we Wrocławiu, VI Wydział Gospodarczy KRS,  
Nr KRS: 0000850580

Na uwagę zasługuje ponadto fakt, że doktorantka była laureatką projektu ETIUDA finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Podsumowując ocenę formalną pracy – rozprawa została przygotowana starannie i rzetelnie, z dużą dbałością edytorską i w pełni umożliwia zapoznanie się z warszatem oraz dorobkiem naukowym Doktorantki.

Celem pracy podjętej przez Doktorantkę było zbadanie nowoodkrytych, nietypowych produktów glikacji nazywanych MAGE (produkt glikacji pochodzący od melibiozy), a w szczególności wyizolowanie naturalnie występującego MAGE z krwi ludzkiej, identyfikację rodzaju białka nośnikowego oraz ich analizę metodami immunochemicznymi i spektrometrycznymi. Genezą podjętych badań były wcześniejsze obserwacje zespołu wskazujące na obecność w organizmie nowego antygenu AGE, którego modelowy analog otrzymano techniką glikacji białek z melibiozą w warunkach bezwodnych.

Wykorzystując mioglobinę oraz różne cukry i aldehydy, doktorantka rozpoczęła prace eksperymentalne od zoptymalizowania metod syntezy mikrofalowej oraz standardowej glikacji w roztworze. Następnie scharakteryzowała właściwości fizykochemiczne otrzymanych produktów poprzez analizę ich widm absorpcyjnych i fluorescencyjnych identyfikując, struktury odmienne od konwencjonalnych AGE opisanych w literaturze. Zidentyfikowała niskocząsteczkowy MAGE (LMW-MAGE), którego właściwości fizykochemiczne i strukturalne odpowiadały wysokocząsteczkowemu HMW-MAGE.

W kolejnym etapie Doktorantka rozpoczęła eksperymenty prowadzące do wyprowadzenia linii komórek hybrydoma produkujących przeciwciała monoklonalne anty-MAGE. Do selekcji klonów wykorzystano otrzymane HMW-MAGE i LMW-MAGE. Przeciwciała wyprodukowane przez wyselekcjonowany klon zostały oczyszczone metodą chromatografii powinowactwa i wykorzystane do wiązania z surowicy ludzkiej endogennych epitopów. Następnie Doktorantka metodą spektrometrii mas analizowała wyizolowane białka surowicy zawierające epitop MAGE, identyfikując albuminę oraz przeciwciała klas: IgG oraz IgA.

Reasumując wyniki badań otrzymane przez Doktorantkę, uważam, że cele badań wytyczone na wstępie pracy zostały w pełni zrealizowane a identyfikacja endogennych białek surowicy, z potwierdzonym antygenem MAGE dostarcza nowej wiedzy na temat glikacji białek w organizmie człowieka.

Wyniki zaprezentowane w pracy są przekonujące, wyczerpująco opisane i świadczą o rzetelnym i dokładnym prowadzeniu zaplanowanych badań, które umożliwiły realizację postawionego w pracy celu. Nasunęły mi się jednak dwie sugestie:

1. W opisie dotyczącym produkcji przeciwciał (rozdział Materiały i metody) znajduje się jedynie lakoniczny opis immunizacji myszy: „...uzyskany po immunizacji myszy Balb/c produktami MAGEs” Proszę o doprecyzowanie tych informacji (sposób, częstotliwość podania antygenu, wykorzystany adiuwant). Biorąc pod uwagę fakt, że Doktorantka otrzymała przeciwciała klasy (IgE), co nie jest typowe, informacje te (szczególnie o adiuwancie) wydają się ważne.

2. Sugeruję przeredagowanie punktu 4. z rozdziału 6. Wnioski.

### Strona 2 z 3

Wniosek o występowaniu epitopu MAGE na odmiennych białkach u osób zdrowych i chorych został sformułowany w oparciu o analizę surowicy jednego pacjenta z cukrzycą i jednego zdrowego dawcy, co jest niewystarczające by taka konkluzja była wiarygodna.

W mojej ocenie, praca doktorska Pani mgr inż. Kingi Gostomskiej-Pampuch spełnia wszystkie kryteria określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595, z późn. zm.).

Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr inż. Kingi Gostomskiej-Pampuch do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie, mając na uwadze jej znaczenie aplikacyjne, oraz fakt, że część wyników została opublikowana w recenzowanym czasopiśmie o IF 4,38 zwracam się do Wysokiej Rady Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda o wyróżnienie ocenianej pracy stosowną nagrodą.

dr hab. inż. Jakub Siednienko

