

Autoreferat rozprawy doktorskiej pt:

„Opracowanie specyficznych procedur spektralnych poszukiwania wskaźników wybranych jednostek chorobowych w próbkach klinicznych”

Autor: mgr Katarzyna Jabłonka-Salach

Promotor: Prof. dr hab. Ewa Bułska

Pracownia Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej

Wyniki pomiarów chemicznych są wykorzystywane w wielu obszarach, między innymi: w przemyśle, przy ocenie składu surowców, półproduktów i produktów czy w kontroli zanieczyszczeń środowiska. Analiza chemiczna jest również doskonałym narzędziem wspomagającym poszukiwania surowców geologicznych, badania materiałów związanych z rozwojem atomistyki czy badania związane z dziedzictwem kulturowym. Warto podkreślić, że ogromny rozwój technik pomiarowych w dziedzinie analizy chemicznej jaki nastąpił w XX wieku, przyczynił się do dużego zainteresowania ich zastosowaniem w badaniach medycznych. Z jednej strony jest to związane z ulepszeniem rutynowych testów pozwalających na ocenę stanu zdrowia człowieka, ale również z rozwojem badań ukierunkowanych na poszukiwanie nowych wskaźników stanów chorobowych. Pomiarów chemicznych mają również zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, zarówno przy rutynowej kontroli jakości produkcji, jak również w badaniach związanych z opracowywaniem nowych leków i sposobów ich wytwarzania. Niewątpliwie, rozwój nowych technik pomiarowych i wyposażenie przyrządów w komputerowe systemy do ich obsługi, pozwalają na usprawnienie procedur pomiarowych. Warto przy tym podkreślić, że wbrew mylnemu często przekonaniu, że automatyzacja rozwiązuje wszelkie problemy, to uzyskiwanie miarodajnych wyników oraz ich właściwa interpretacja wymagają dużej wiedzy, doświadczenia oraz współpracy interdyscyplinarnej. Niewątpliwie chemik analityk musi posiadać umiejętność obsługi najnowocześniejszych urządzeń pomiarowych, ale przede wszystkim rozumieć procesy fizykochemiczne zachodzące podczas pomiaru, aby móc w sposób wiarygodny określić potencjalne źródła błędów. Dodatkowo, aby właściwie wybrać procedurę pomiarową, musi znać cel badań i mieć pełną świadomość każdego etapu prowadzonych badań.

Badania poświęcone kontroli stanu zdrowia człowieka warunkują potrzebę oznaczania stężenia pierwiastków na poziomie śladowym, co jest możliwe tylko dzięki wykorzystaniu bardzo precyzyjnych i czułych urządzeń pomiarowych. Poznanie poziomu na jakim wstępują pierwiastki w organizmie ludzkim czy ich rozmieszczenia w tkankach oraz poznanie procesów biochemicznych występujących w organizmie żywym wyznaczają kierunek rozwoju współczesnej chemii analitycznej, w tym analizy klinicznej.

W rozprawie doktorskiej została przedstawiona istota szeroko rozumianych badań interdyscyplinarnych poprzez przedstawienie trzech różnych historii, trzech różnych problemów i trzech różnych podejść chemika analityka, które pozwoliły odpowiedzieć na część pytań z zakresu medycyny i tym samym przyczynić się do lepszego poznania wybranych jednostek chorobowych czy zaburzeń organizmu.

W części literaturowej niniejszej pracy przedstawione zostały zagadnienia dotyczące analizy klinicznej oraz przybliżona została charakterystyka analityczna procedur pomiarowych. W pierwszej części opisane zostały zarówno rutynowo stosowane metody diagnostyczne jak i najczęściej wykorzystywane do tych celów próbki kliniczne. Przedstawiono również jakie najważniejsze informacje dotyczące stanu zdrowia można otrzymać poprzez sprawdzenie wybranych parametrów krwi i moczu, podkreślając tym samym znaczenie rutynowych badań diagnostycznych. Przedstawiono także alternatywne próbki kliniczne wraz z informacjami, jakie można uzyskać poprzez ich analizę. Opisano również badania próbek klinicznych, które nie są stosowane rutynowo w laboratoriach klinicznych, jednak mogą dostarczać wielu informacji i stać się cennym narzędziem diagnostycznym w dziedzinie medycyny. Ostatnim poruszonym tematem była charakterystyka analityczna procedur i metod pomiarowych, w której przybliżono schemat postępowania analitycznego prowadzącego do uzyskania jak najbardziej rzetelnych, wiarygodnych i użytecznych wyników.

W pracy eksperymentalnej opisano trzy projekty interdyscyplinarne, których głównym celem było stworzenie indywidualnych procedur analitycznych mających na celu znalezienie specyficznych wskaźników wybranych jednostek chorobowych w próbkach klinicznych. Każdy ze zrealizowanych projektów zaczyna się krótkim wprowadzeniem i ogólnym przedstawieniem problemu. Zabieg ten miał na celu przybliżenie, jakie informacje przed przystąpieniem do realizacji projektu należało uzyskać z prowadzonych badań

interdyscyplinarnych z lekarzami i naukowcami. Sprecyzowanie celu analitycznego pozwoliło na dobór odpowiedniej procedury analitycznej, takiej aby uzyskane wyniki były przydatne.

Pierwszy projekt dotyczył stworzenia procedury oznaczania całkowitej zawartości ołowiu w próbkach krwi i osocza, która byłaby szybka oraz względnie tania z powodu możliwości analizy dużej liczby próbek. Dodatkowo procedura musiała uwzględniać nie tylko małe ilości próbek przeznaczonych do badań, ale również musiała być bardzo czuła ze względu na niskie stężenia oznaczanego pierwiastka w próbkach. Utrudnieniem była bardzo mała ilość dostarczonych do badań próbek. Prowadzone pomiary były etapem dużego projektu, w którym sprawdzano wpływ palenia papierosów na poziom ołowiu we krwi i w osoczu. Badaną grupą były kobiety w ciąży, które paliły papierosy przez cały okres trwania ciąży. Grupę kontrolną stanowiły ciężarne kobiety niepalące. Poziom pierwiastka sprawdzany był we wszystkich trymestrach ciąży. Otrzymane wyniki pozwoliły odpowiedzieć na pytanie, czy istnieje korelacja pomiędzy zawartością ołowiu we krwi i w osoczu, a liczbą wypalanych dziennie papierosów i niską masą urodzeniową dziecka. Badania te miały na celu potwierdzenie negatywnego wpływu nadmiernej ekspozycji na ołów na rozwój prenatalny. Badania były prowadzone przy ścisłej współpracy z Instytutem Matki i Dziecka w Warszawie.

Drugi projekt był częścią interdyscyplinarnych badań dotyczących rzadkiej choroby Wilsona. Celem prowadzonych badań w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie odpowiedniej procedury analitycznej pozwalającej na otrzymanie wiarygodnych wyników dotyczących zawartości miedzi, żelaza, cynku i manganu w tkankach pochodzących z wybranych rejonów mózgu osób chorych na chorobę Wilsona. Największa trudność przy opracowaniu procedury spowodowana była niewielkimi rozmiarami próbek, co uniemożliwiało na przykład mineralizację wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym w systemie zamkniętym, którą zwykle stosuje się w przypadku rozkładu próbek biologicznych w tym klinicznych. Dodatkową trudnością brak dostępnego komercyjnie materiału odniesienia, którego matryca byłaby idealnie spójna z badaną. Badania były prowadzone przy współpracy z Instytutem Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie.

Celem ostatniego projektu było opracowanie procedury pozwalającej na określenie rozmieszczenia wybranych pierwiastków (Mg, Cu, Zn, Mn, Fe) w tkankach jajników ludzkich. Taka procedura pozwoliłaby odpowiedzieć na pytanie, czy istnieją zależności pomiędzy rozmieszczeniem wybranych pierwiastków w próbce pochodzącej od osoby zdrowej

oraz w próbce pobranej od osoby u której stwierdzono obecność zmian nowotworowych i tym samym wzbogacić dotychczasową wiedzę na temat nowotworów jajnika. Największą trudność w opracowywaniu procedury analitycznej był dobór optymalnych warunków, w których prowadzona była ablacja laserowa, ze względu na złożoną i niejednorodną matrycę próbek i brak komercyjnie dostępnych materiałów odniesienia. Po optymalizacji procedury podjęto próbę znalezienia ewentualnych różnic i korelacji pomiędzy rozmieszczeniem wybranych pierwiastków w tkankach zdrowych i objętych chorobą nowotworową. Badania prowadzone były przy współpracy z Wojskowym Instytutem Medycznym w Warszawie.

Niniejsza praca miała na celu pokazanie możliwości wykorzystania technik analitycznych do rozwiązywania problemów i odpowiedzi na pytania z zakresu medycyny, stworzenie procedur dedykowanych konkretnym badaniom, próbkom i problemom. Poprzez opisanie trzech różnych historii chciałam dodatkowo podkreślić jak duży wpływ na rozwój współczesnej medycyny mogą mieć badania interdyscyplinarne, jak ważna jest ścisła współpraca z innymi jednostkami i instytucjami oraz jak istotne jest indywidualne podejście do badań z pogranicza nauk.

Rezultaty badań przedstawione w rozprawie doktorskiej zostały opublikowane w postaci sześciu publikacji oryginalnych

1. Dusek P., Bahn E., Litwin T., **Jabłonka-Salach K.**, Łuciuk A., Huelnhagen T., Madai V.I., Dieringer M., Knauth M., Niendorf T., Sobesky J., Paul F., Schneider S.A., Członkowska A., Brück W., Wegner C., Wuerfel J., „Brain iron accumulation in Wilson disease: a post-mortem 7 Tesla MRI - histopathological study”, *Annals of Neurology* – w druku
2. Walter U., Skowrońska M., Litwin T., Szpak G.M., **Jabłonka-Salach K.**, Skoloudík D., Bulska E., Członkowska A., „Lenticular nucleus hyperechogenicity in Wilson’s disease reflects local copper but not iron accumulation”, *Journal of Neural Transmission*, 121 (2014) 1273-1279
3. Chełchowska M., Ambroszkiewicz J., **Jabłonka-Salach K.**, Gajewska J., Maciejewski T.M., Bulska E., Laskowska-Klita T., Leibschang J., „Tobacco smoke exposure during

pregnancy increases maternal blood lead levels affecting neonate birth weight”, Biol. Trace. Elem. Res., 155 (2013) 169-175;

4. Przybyłkowski A., Gromadzka G., Wawer A., Bulska E., **Jabłonka-Salach K.**, Grygorowicz T., Schnejder-Pachołek A., Członkowski A., „Neurochemical and Behavioral Characteristics of Toxic Milk Mice: An Animal Model of Wilson's Disease”, Neurochem Res, 38 (2013) 2037-2045
5. Litwin T., Gromadzka G., Szpak G.M., **Jabłonka-Salach K.**, Bulska E., Członkowska A., „Brain metal accumulation in Wilson's disease”, Journal of the Neurological Sciences, 329 (2013) 55-58;
6. Chełchowska M., **Jabłonka-Salach K.**, Ambroszkiewicz J., Maciejewski T., Gajewska J., Bulska E., Laskowska-Kalita T., Leibschang J., Barciszewski J., „Wpływ palenia tytoniu na poziom ołowiu we krwi kobiet ciężarnych”, Medycyna Wieku Rozwojowego, 3 (2012) 196-204