

Białystok, 20 lutego 2017 r.

Komisja Habilitacyjna

Powołana do przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego

dr n. farm. Michała Ciborowskiego

Rada Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii  
i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim  
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

**Uzasadnienie uchwały w sprawie nadania dr n. farm. Michałowi Ciborowskiemu stopnia  
doktora habilitowanego nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna.**

Komisja habilitacyjna w składzie:

- przewodniczący Komisji: prof. dr hab. Dariusz Chlubek
- sekretarz Komisji: dr hab. Anna Popławska-Kita
- recenzenci:
  - prof. dr hab. Jerzy Pałka
  - prof. dr hab. Alicja Bortkiewicz
  - prof. dr hab. Grzegorz Opolski
- członkowie Komisji:
  - prof. dr hab. Andrzej Szutowicz
  - prof. dr hab. Bożena Sobkowicz

zapoznała się z nadesłanymi recenzjami oceniającymi dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny dr n. farm. Michała Ciborowskiego. Opinie wszystkich Recenzentów potwierdzają dużą wartość przedstawionego dorobku naukowego oraz dojrzałość naukową Kandydata, pozytywnie opiniując kandydaturę do stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych.

Komisja ustaliła co następuje:

## I. Dane biograficzne i informacje ogólne o habilitancie

Michał Ciborowski ukończył studia na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku w 2003 roku uzyskując tytuł magistra chemii. W 2008 roku Rada Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej UMB na podstawie dysertacji pt.: „Poszukiwanie przyczyn niskiej skuteczności leków blokujących receptor GPIIb/IIIa w zapobieganiu nadkrzepliwości i zwiększonej agregacji płytek” uchwaliła nadanie mu stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

W latach 2003-2012 dr Michał Ciborowski pracował w Zakładzie Chemii Fizycznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, początkowo jako asystent (2003-2009), a następnie adiunkt (2011-2012). W latach 2009-2011 odbył dwuletni staż naukowy w Centrum Metabolomiki i Bioanalizy (CEMBIO) Uniwersytetu San-Pablo w Madrycie, a w latach 2002-2013 brał udział w licznych kursach związanych z chemią analityczną. Podoktorski staż w Hiszpanii zdecydował o dalszych zainteresowaniach naukowych Habilitanta – ich głównym nurtem są badania nad zastosowaniem wysoko zaawansowanych technologii analitycznych (LC-MS, LC-QTOF-MS/MS, GC-MS) w analizie metabolomicznej, lipidomicznej i proteomicznej płynów ustrojowych i tkanek w przebiegu chorób układu sercowo-naczyniowego oraz nowotworowych. Od 2012 roku dr n. farm. Michał Ciborowski zatrudniony jest na stanowisku adiunkta w Centrum Badań Klinicznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, opiekując się laboratorium spektrometrii mas i związanym z nim zespołem badawczym.

Doktor Ciborowski poza dwuletnim stażem podoktorskim na Uniwersytecie w Madrycie, kilkakrotnie odbywał krótsze szkolenia naukowe w ośrodkach akademickich w Hiszpanii i Grecji. Za osiągnięcia naukowe wielokrotnie otrzymywał nagrody indywidualne, bądź zespołowe Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

## II. Ocena dorobku naukowo-badawczego

Dorobek naukowy dr n. farm. Michała Ciborowskiego obejmuje **25 publikacji**, w tym 1 pracę poglądową, dwa rozdziały w książkach oraz **49 komunikatów konferencyjnych**. Prace te posiadają łączny **IF=73.349 (655 punktów MNiSW)**. Liczba cytowań wg Web of Science wynosi

179, natomiast **indeks Hirscha** równy jest **8**. Recenzenci podkreślili fakt, że w większości swego znaczącego dorobku naukowego Habilitant jest pierwszym lub drugim autorem.

Na publikacje stanowiące wymieniony dorobek składają się trzy grupy prac. Pierwsze siedem prowadzonych przed uzyskaniem stopnia doktora dotyczyło funkcji płytek krwi i procesu krzepnięcia. Kolejnych osiem prac dotyczyło metabolomiki i związane było z odbyciem dwuletniego stażu podoktorskiego w jednym z najlepszych europejskich ośrodków badań metabolomicznych – CEMBIO Uniwersytetu San-Pablo-CEU w Madrycie. Do ostatniej grupy wliczają się dwie prace niepowiązane tematycznie z głównymi kierunkami badań.

W początkowym okresie działalności badawczej zainteresowanie Habilitanta skupione było na badaniach *in vitro* dotyczących poszukiwania endogennych czynników aktywujących płytki krwi oraz procesu zakrzepowego w celu wyjaśnienia molekularnego mechanizmu tego zjawiska. Uzyskane wyniki dostarczyły dowodów udziału wymiennicy jonowych  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  oraz glikoproteiny GPIIb/IIIa – receptora fibrynogenu, w procesie aktywacji płytek krwi. Pozwoliło to postawić hipotezę zakładającą przeciwwakrzepowe działanie blokerów receptora GPIIb/IIIa, np. eptifibatydu czy tirofibanu. Wyniki tych badań wraz z dyskusją na temat prawdopodobnych mechanizmów działania przeciwwakrzepowego tych związków i jednocześnie ich słabej skuteczności terapeutycznej zostały zamieszczone w pracy doktorskiej Habilitanta.

W dalszej działalności naukowej przedmiotem głównego zainteresowania dr n. farm. Michała Ciborowskiego było opanowanie nowoczesnej metodologii analiz metabolomicznych w badaniu przebiegu różnych chorób. Głównym narzędziem badawczym Habilitanta stały się nowoczesne techniki separacyjne sprzężone ze spektrometrią mas: wysokosprawna chromatografia cieczowa oraz chromatografia gazowa z różnymi odmianami detekcji mas (LC-MS, LC-QTOF-MS/MS, GC-MS). W swojej recenzji prof. dr hab. Jerzy Pałka zaznaczył fakt, że dr n. farm. Michał Ciborowski jest spadkobiercą innowacyjnej technologii badawczej, którą opanował i wdrożył do rozwiązywania własnych zadań badawczych. Rozwój tego kierunku badań umożliwił mu doskonały zespół naukowy stworzony przez prof. Coral Barbas, kierownika CEMBIO Uniwersytetu San-Pablo-CEU w Madrycie i jednocześnie pioniera badań metabolomicznych. Prowadzone przez Habilitanta badania z wykorzystaniem metabolomiki dotyczyły zmian w szlakach metabolicznych wywołanych cukrzycą, białaczkami B-komórkowymi, tętniakiem aorty, ciążą. Badania prowadzone były zarówno na ludziach (w większości prac badawczych) jak i na modelach zwierzęcych (jak na przykład w przypadku badań nad metabolitami w moczu

szczurów z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą). Wszyscy recenzenci szczególnie wyróżnili pracę związaną z białaczkami B-komórkowymi, w których wykazano, że bazując na profilu metabolomicznym możliwe jest odróżnienie chorych na szpiczaka mnogiego od chorych z chroniczną białaczką limfatyczną (z ang. *chronic lymphocytic leukemia*, CLL). Ponadto wśród pacjentów z CLL możliwe było, bazując na oznaczonym panelu metabolitów, wskazanie pacjentów z łagodną lub agresywną postacią choroby. Tym samym uzyskane wyniki mają aspekt praktyczny – mogą poprawić diagnostykę choroby i ułatwić podjęcie decyzji o wprowadzeniu leczenia.

Do obszaru zainteresowań habilitanta należą również sposoby analizy danych wielkoskalowych, w tym ich analiza statystyczna. Zainteresowanie metodologią pozwoliło, obok jej opanowania i ciągłego wdrażania do własnych zadań badawczych, opublikować kilka prac metodologicznych opisujących strategie obróbki danych, sposoby ich analizy statystycznej i metody identyfikacji wykrywanych metabolitów.

Na podstawie dokumentacji publikacyjnej można stwierdzić, że dr n. farm. Michał Ciborowski doskonale nowoczesny warsztat badawczy chemii analitycznej opanował metodologię analiz metabolomicznych, lipidomicznych i proteomicznych. Zastosowanie innowacyjnych technik badawczych nadaje pracy Habilitanta nie tylko duże znaczenie poznawcze, ale pokazuje też znaczny potencjał aplikacyjny tego typu analiz, między innymi w diagnostyce różnego rodzaju chorób. Wyniki jego badań wnoszą również oryginalny i twórczy wkład do metodologii analiz metabolomicznych, lipidomicznych i proteomicznych.

Jako rozprawę habilitacyjną (osiągnięcie naukowe) z dorobku naukowego dr n. farm. Michała Ciborowskiego wyodrębniono cykl pięciu tematycznie powiązanych prac o łącznym IF 22.389, MNiSW 200.

**III. Ocena osiągnięcia naukowego określonego w art.16 ust.2 Ustawy z 14 marca 2003, o stopniach naukowych i tytule naukowym, Dz.U. z 2003r., nr 65, poz.595, Dz.U. z 2005 r., nr. 164, poz. 1365, Dz.U. z 2011 r., nr.84, poz. 455).**

Przedmiotem oceny znaczącego osiągnięcia naukowego pt. „Ocena zmian szlaków metabolicznych fosfolipidów wywoływanych chorobami układu krążenia z wykorzystaniem wielkoskalowych metod opartych na spektrometrii mas” jest cykl pięciu oryginalnych,

powiązanych ze sobą prac współautorskich, w których Habilitant opisuje wyniki badań nad zastosowaniem analizy metabolomicznej, proteomicznej i lipidomicznej do oceny zaburzeń metabolicznych w przebiegu różnych chorób układu krążenia. Ogólny współczynnik oddziaływania dla przedłożonego cyklu wynosi **IF=22.389**, liczba **punktów MNiSW 200**. W trzech z tych prac dr n. farm. Michał Ciborowski był pierwszym autorem, w dwóch drugim autorem. W pracach z pierwszym autorstwem Habilitant ocenił swój wkład merytoryczny na 80%, w pozostałych na 45%, co potwierdzone zostało oświadczeniami pozostałych autorów publikacji. Celem pracy habilitacyjnej była ocena profili metabolomicznych fosfolipidów oraz metabolitów powiązanych z ich przemianami w chorobach układu krążenia.

W pierwszej z prac pt. „Rapid and Reliable Identification of Phospholipids for Untargeted Metabolomics with LC-ESI-QTOF-MS/MS” opublikowanej na łamach czasopisma głównego nurtu dyscypliny badawczej - *Journal of Proteome Research*, Habilitant ocenił możliwość zastosowania LC-MS do identyfikacji w analizie niecelowanej fosfolipidów i powiązanych z nimi metabolitów. Wykazano, że na podstawie widma fragmentacji fosfolipidu zarejestrowanego w obu polaryzacjach możliwe jest wskazanie kategorii, do której dany fosfolipid należy oraz zidentyfikowanie składających się na niego kwasów tłuszczowych. Rezultatem tej pracy była również lista fragmentów charakterystycznych, pełniących rolę diagnostyczną w identyfikacji. Według Recenzentów na uznanie zasłużyło metodologiczne opracowanie problemu. Proponowana metoda pozwala na szybką identyfikację lipidów, uwzględniając w tym informacje o grupie tworzącej głowę związku, składzie kwasów tłuszczowych oraz rodzaju przyłączonego aduktu. Pozwala tym samym zminimalizować ryzyko lub nawet uniknąć błędów w identyfikacji lipidów w próbach biologicznych.

Kolejne dwie publikacje dotyczą zastosowania analizy typu „metabolicznego odcisku palca” (z ang. *metabolic fingerprint*) w pionierskich badaniach zmian związanych z tętniakiem aorty brzusznej i jego sekretomu. Celem opublikowanej w 2011 roku w *Journal of Proteome Research* pracy pt. „Metabolites secreted by human atherothrombotic aneurysms revealed through a metabolomic approach” było zidentyfikowanie metabolitów, które mogą być uwalniane do krwiobiegu przez skrzeplinę lub ścianę tętniaka aorty brzusznej. Ponadto sprawdzano czy istnieją różnice w metabolizmie między zdrową a chorobowo zmienioną tkanką. Recenzenci zwrócili uwagę na fakt, że była to pierwsza przeprowadzona u ludzi analiza metabolitów wydzielanych przez skrzeplinę w obrębie tętniaka aorty brzusznej. Rezultatem było opracowanie nowej metody

analizy metabolitów wykrywanych w tego typu materiale biologicznym. W recenzjach podkreślono trudność pozyskania takiego materiału badawczego i przeprowadzenia tego typu badań. W pracy zidentyfikowano szereg związków związanych ze stresem oksydacyjnym, procesami zapalnymi, metabolizmem aminokwasów, oraz metabolizmem energetycznym i degradacją tkanek. Pozwoliło to na powiązanie tętniaka aorty brzusznej z zaburzeniami w kilku szlakach metabolicznych. O dużym znaczeniu poznawczym tej pracy również świadczy fakt, że część z wykrytych w tej analizie metabolitów nie była do tej pory łączona z tętniakiem aorty brzusznej. Bardzo interesującym aspektem tych badań było również wykazanie różnic w zakresie obecności amidów kwasów tłuszczowych między zdrową ścianą naczynia a ścianą tętniaka, ponieważ rola tych związków w chorobach układu krążenia jest obecnie dyskutowana, ale dotychczas nie została wyjaśniona. Za walor tej pracy recenzenci uznali także szerokie spektrum oznaczonych substancji oraz wnikliwą analizę statystyczną.

Tematykę tą podjęto ponownie w kolejnej publikacji - „Metabolomics with LC-QTOF-MS permits the prediction of disease stage in aortic abdominal aneurysm based on plasma metabolic fingerprint” opublikowanej w *PLoS One* w 2012 roku. Praca ta jest szczególnie istotna z punktu widzenia praktycznego. Przeprowadzone przez Habilitanta badania stwierdzają możliwość odróżnienia pacjentów z tętniakiem aorty brzusznej od osób zdrowych na podstawie profilu osoczowych metabolitów. Ponadto na tej podstawie możliwa jest także ocena stopnia zaawansowania choroby, czyli wielkości tętniaka. Tym samym wykazano, że wykryte w analizie metabolity mogą być wczesnymi markerami tętniaka aorty brzusznej. Tu także Recenzenci zwrócili szczególną uwagę na zastosowaną metodologię badawczą pracy.

Kolejna publikacja pt. „Combination of LC-MS-and GC-MS-based metabolomics to study the effect of ozonated autohemotherapy on human blood” dotyczy ważnego problemu skutków stresu oksydacyjnego w genezie chorób układu krążenia. Korzystając z wspomnianej już metody metabolic fingerprintingu Habilitant przeprowadził badania próbek krwi poddanych ozonowaniu (stanowiących model kontrolowanego stresu oksydacyjnego) oraz natlenowaniu powietrzem (jako kontroli). W zależności od zastosowanej dawki ozonu zaobserwowano zmiany w zawartości osoczowych antyoksydantów i produktów utleniania lipidów. Wyznaczone zostały też nowe biomarkery stresu oksydacyjnego. Za walor pracy uznano odtworzenie w badaniach sytuacji rzeczywistej, ponieważ zaproponowany przez autorów model eksperymentalny w ogólnym zarysie odpowiada zabiegowi autohemoterapii ozonowej. Podkreślono także wartości poznawcze pracy –

zaobserwowanie w badaniach takich zjawisk jak wzrost stężenia plastyfikatorów w poddanej ozonowaniu krwi otwiera nowy rozdział w dyskusji na temat bezpieczeństwa ozonowania krwi.

Opublikowana w 2016 roku w *Journal of Proteome Research* "A single in-vial dual extraction strategy for the simultaneous lipidomics and proteomics analysis of HDL and LDL fractions" jest rozszerzeniem omówionych dotychczas badań. Bazując na wiedzy, że lipoproteiny pełnią ważną rolę w przemianach lipidowych, Habilitant zaproponował nową metodę jednoczesnej analizy lipidów (lipidomika) i białek (proteomika). Celem pracy było opracowanie metody analizy lipidomu i proteomu lipoprotein frakcji LDL i HDL oraz jej zastosowanie w porównaniu genetycznie zmodyfikowanych myszy typu ApoE (-/-) (uważanych za jeden z najlepszych modeli badania miażdżycy) do myszy dzikiego typu. Proponowana przez autorów nowatorska metoda pozwala uzyskać informacje o zmianach w lipidach i białkach znajdujących się w lipoproteinach i wykonać oznaczenia w tej samej próbce HDL lub LDL przy pomocy dwóch platform badawczych. Wśród otrzymanych wyników przedstawiono został skład lipidomu frakcji HDL i LDL, zgodny z aktualnym stanem wiedzy w tym zakresie. Dodatkowo u myszy ApoE-KO w porównaniu do typu dzikiego stwierdzono istotnie podwyższony poziom niektórych lipidów (kwasów tłuszczowych, prenoli, sfingolipidów) we frakcjach cholesterolu, szczególnie we frakcji LDL. Za szczególnie interesujące recenzenci uznali obserwacje dotyczące sfingolipidów, które zarówno w warunkach fizjologicznych jak i w patologicznych odgrywają istotną rolę w układzie sercowo-naczyniowym. Za dyskusyjne uznano ekstrapolowanie modelu zwierzęcego na patogenezę miażdżycy u człowieka, ze względu na fakt, że różnice mogą te wynikać z faktu nieobecności u genetycznie zmodyfikowanych myszy apolipoproteiny E. Na podkreślenie zasłużył także fakt, że niektóre z białek w lipoproteinach myszy ApoE-KO zostały wykryte w tym badaniu po raz pierwszy.

Powyższe wyniki badań uzyskano dzięki opracowaniu metodologii wielkoskalowych analiz metabolomicznych z zastosowaniem innowacyjnej technologii analitycznej – nowoczesnych technik separacyjnych sprzężonych ze spektrometrią mas, takich jak LC-QTOF-MS, GC-MS czy LC-Orbitrap-MS.

Cykl pięciu tematycznie powiązanych, opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych publikacji przedstawia rozwój myśli naukowej od opracowania i przetestowania metody badań poprzez wykorzystanie jej w badaniach klinicznych i eksperymentalnych. Przeprowadzone przez Habilitanta badania stanowią oryginalny i istotny wkład w naszą wiedzę na

temat biochemicznego podłoża rozwoju miażdżycy oraz chorób układu krążenia. Jednocześnie podjęcie tej tematyki jest uzasadnione zarówno ze względu na rozpowszechnienie tego rodzaju schorzeń w populacji jak i szerokiego występowania fosfolipidów w organizmach żywych. Związki te są nie tylko jednym z głównych składników błon biologicznych, ale też istotnym elementem licznych procesów metabolicznych i szlaków biochemicznych. Przedstawione przez Habilitanta wnioski wypływające z przeprowadzonych badań mają zarówno znaczenie poznawcze jak i praktyczne. Rodzaj i sposób prowadzonych badań świadczą o stałym rozwoju potencjału badawczego i zainteresowań dr n. farm. Michała Ciborowskiego.

#### **IV. Ocena dorobku dydaktyczno-organizacyjnego**

Recenzenci wyrażają opinię, iż doktor Michał Ciborowski jest nauczycielem akademickim o uznanych osiągnięciach. Habilitant posiada doświadczenie dydaktyczne z zakresu chemii fizycznej i metabolomiki. Od 2003 roku dr n. farm. Michał Ciborowski zaangażowany był w nauczanie studentów. W latach 2003-2008 i 2011-2012 prowadził ćwiczenia z przedmiotu Chemia Fizyczna dla studentów kierunków Farmacja oraz Analityka Medyczna na UMB. Ponadto dr Ciborowski posiada osiągnięcia w kształceniu młodej kadry naukowo-badawczej – był kopro promotorem 1 rozprawy doktorskiej na Uniwersytecie San Pablo CEU w Madrycie. Habilitant w latach 2005-2012 był także opiekunem 4 prac magisterskich. Według recenzentów na podkreślenie zasługuje aktywność w zakresie organizacji i współprowadzenia kursów dla doktorantów i pracowników naukowych dotyczących podstaw i wykorzystania w praktyce metabolomiki i proteomiki. Ponadto w 2011 roku doktor Michał Ciborowski był współorganizatorem międzynarodowej odbywającej się w Białymstoku konferencji dotyczącej stresu oksydacyjnego.

Od 2013 roku dr n. farm. Michał Ciborowski zatrudniony jest na stanowisku adiunkta w Centrum Badań Klinicznych UMB. Aktywnie uczestniczy w działalności organizacyjnej tej jednostki przyczyniając się do stworzenia zaplecza naukowo-badawczego do prowadzenia badań metabolomicznych i proteomicznych.

Habilitant jest aktywnym członkiem dwóch międzynarodowych towarzystw naukowych – European Association for the Study of Diabetes (EASD) i Metabolomics Society. W latach 2005-2013 należał do Polskiego Towarzystwa Biochemicznego.



Recenzenci podkreślają udział Habilitanta w realizacji licznych projektów badawczych, co dowodzi zarówno wysokich umiejętności pracy w zespołach badawczych jak i stania na ich czele. Na uwagę zasługuje także konkurencyjność w zakresie pozyskiwania środków na działalność badawczą – 4 granty badawcze finansowane przez Polsko-Hiszpański program Offsetowy, granty NCBiR i NCN.

Wyrazem uznania dla dorobku naukowego doktora Ciborowskiego jest zapraszanie go do recenzowania publikacji naukowych w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, takich jak na przykład *Metabolomics*, *Journal of Proteome Research*, *Electrophoresis*. Habilitant był także Redaktorem specjalnego wydania *Journal of Diabetes Research*.

Reasumując, działalność dydaktyczna dr n. farm. Michała Ciborowskiego odpowiada wymogom stawianym samodzielnym pracownikom naukowym. Recenzenci stwierdzają, że Habilitant jest doświadczonym dydaktykiem i sprawnym organizatorem, pełniącym wiele ważnych funkcji w życiu Uczelni i środowiska akademickiego. W świetle przedstawionych informacji, działalność Habilitanta należy uznać za znaczącą i odpowiadającą jego wysokim kwalifikacjom zawodowym i naukowo-dydaktycznym.

## V. Wniosek końcowy

Podsumowując istotną działalność naukową o bardzo wysokiej punktacji MNiSW – 655 oraz współczynnika oddziaływania IF 73,349, wysoko ocenianą przez autorów innych publikacji, bardzo wysoką aktywność badawczą, dydaktyczną i organizacyjną, wszyscy Recenzenci wnioskowali do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Na podstawie przedstawionych recenzji, autoreferatu, opisu osiągnięć naukowych oraz pozytywnego wyniku głosowania członków Komisji Habilitacyjnej stwierdzamy, że osiągnięcia dr n. farm. Michała Ciborowskiego spełniają kryteria określone w art. 16 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz.595, Dz.U. z 2005 r., nr 164, poz. 1365, Dz.U. z 2011r., nr 84, poz. 455).

Podsumowując swoją opinię Komisja podkreśla niezwykle pozytywną ocenę dorobku naukowego oraz działalności dydaktyczno-organizacyjnej Kandydata. W związku z powyższym Komisja zwraca się do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o nadanie dr n. farm. Michałowi Ciborowskiemu stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych.

*J. Peptowska-Kula*

KIEROWNIK  
Zakładu Biochemii

*Prof. dr hab. n. med. Dariusz Chlubek*