

Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej
Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej
Laboratorium Diagnostyki Molekularnej
Zespół Laboratoriów BRaIN
tel/fax: +48 42 677-91-30
e-mail: ewa.balcerczak@umed.lodz.pl
prof. dr hab. Ewa Balcerczak

Łódź, 3 stycznia 2024 r.

Ocena

Rozprawy doktorskiej: „Diagnostyczne i prognostyczne wykorzystanie oznaczeń potencjalnych biomarkerów raka płuca u pacjentów narażonych środowiskowo na ksenobiotyki dymu papierosowego” mgr Katarzyny Wadowskiej na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Recenzję przygotowano w związku z pismem z dnia 06.11.2023, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne prof. dr hab. Adama Matkowskiego (data otrzymania pisma 05.12.2023).

Przedstawiony do recenzji cykl publikacji poświęcony jest poznaniu mechanizmów leżących u podstaw patogenezy raka płuca w oparciu o teorię mikrośrodowiska guza oraz wyselekcjonowaniu biomarkerów mikrośrodowiska guza płuca wraz z analizą ich wartości diagnostycznej i oceną użyteczności klinicznej.

Praca została wykonana w Katedrze Analityki Medycznej, Zakładzie Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, UMW, pod kierunkiem Pani dr hab. Marioli Śliwińskiej - Mossoń.

Założenia pracy wpisują się w jeden ze współczesnych, istotnych klinicznie, nurtów naukowych jakim jest zrozumienie wpływu mikrośrodowiska guza na proces nowotworzenia oraz poszukiwanie markerów z tego obszaru. Jest to szczególnie istotne w przypadku raka płuca który stanowi duży problem klinicznych. Nowotwór ten we wczesnych stadiach zaawansowania przebiega bezobjawowo, a diagnostyka jest trudna ze względu na lokalizację guza oraz różnorodność typów histologicznych. Stosowane obecnie narzędzia diagnostyki

Balcerczak

obrazowej jak i badania laboratoryjne nie są wystarczająco czułymi badaniami przesiewowymi w diagnostyce raka płuca stąd konieczność poszukiwania nowych markerów.

Rozprawę doktorską stanowi cykl czterech publikacji, jednej przeglądowej oraz trzech eksperymentalnych. Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich czterech publikacjach. Do rozprawy zostały dołączone oświadczenia współautorów, z których jasno wynika na czym polegała rola Doktorantki w każdej z publikacji składających się na cykl. Pani mgr Katarzyna Wadowska planowała badania, wybierała modele badawcze, przygotowywała bazy danych wykonywała eksperymenty, posługując się bardzo szerokim wachlarzem nowoczesnych technik badawczych, interpretowała oraz opracowywała otrzymane wyniki a następnie przygotowywała manuskrypty oraz ryciny w nich zawarte. W przypadku pracy przeglądowej Doktorantka zebrała i przeanalizowała piśmiennictwo, przygotowała pierwotną wersję manuskryptu oraz redagowała wersję ostateczną. W dwóch publikacjach była autorem korespondencyjnym.

Łączna wartość Impact Factor dla prezentowanych publikacji wynosi 22,788 oraz 580 punktów MNiE. W skład rozprawy wchodzi poniższe publikacje:

1. Katarzyna Wadowska, Iwona Bil-Lula, Łukasz Trembecki, Mariola Śliwińska-Mossoń: Genetic markers in lung cancer diagnosis: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, nr 13, art. 4569 [24 s.], IF2020=5,924; MEiN=140 pkt
2. Katarzyna Wadowska, Piotr Błasiak, Adam Rzechonek, Iwona Bil-Lula, Mariola Śliwińska-Mossoń: New insights on old biomarkers involved in tumour microenvironment changes and their diagnostic relevance in non-small cell lung carcinoma. *Biomolecules*, 2021, vol. 11, nr 8, art. 1208 [24 s.], IF 2021=6,064; MEiN=100 pkt
3. Katarzyna Wadowska, Piotr Błasiak, Adam Rzechonek, Iwona Bil-Lula, Mariola Śliwińska-Mossoń: Hepcidin as a diagnostic biomarker in anaemic lung cancer patients. *Cancers*, 2023, vol. 15, nr 1, art. 224 [24 s.], IF2022=5,2; MEiN=200 pkt
4. Katarzyna Wadowska, Piotr Błasiak, Adam Rzechonek, Mariola Śliwińska-Mossoń: Analysis of MMP-2 -735C/T (rs2285053) and MMP-9 -1562C/T (rs3918242) polymorphisms in the risk assessment of developing lung cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, nr 13, art. 10576 [20 s.], IF2022=5,6; MEiN=140

We Wstępie omówiono wybrane aspekty teoretyczne obejmujące: epidemiologię raka płuca, klasyfikację, czynniki etiologiczne oraz biomarkery biochemiczne. Zabrakło informacji o terapii co byłoby istotne w kontekście omawianych dalej zagadnień. Pomimo drobnych uchybień, Wstęp stanowi dobre wprowadzenie do części w której omówiono poszczególne publikacje.

Celem pracy doktorskiej było usystematyzowanie wiedzy o mechanizmach odpowiedzialnych za patogenezę raka płuca w oparciu o teorię mikrośrodowiska oraz wyselekcjonowanie biomarkerów mikrośrodowiska guza płuca wraz z oceną możliwości ich wykorzystania w diagnostyce laboratoryjnej raka płuca i weryfikacja użyteczności klinicznej we wczesnej diagnostyce co mogłoby wpłynąć na wydłużenie czasu przeżycia. Cele zostały zrealizowane i omówione w 4 publikacjach.

W artykule 1 (*Markery genetyczne w diagnostyce raka płuca*), przeglądowym zebrano i omówiono mechanizmy molekularne kancerogenezy oraz progresji nowotworowej. Podsumowano również wiedzę na temat dostępnych biomarkerów genetycznych w diagnostyce przesiewowej raka płuca, metodach ich oznaczania oraz roli w terapii celowanej. Wykazano że badanie płynnej biopsji ma duży potencjał w diagnostyce raka płuca, pozwala na monitorowanie choroby w czasie rzeczywistym, jest źródłem krążących komórek nowotworowych, krążącego DNA komórkowego, egzosomów, wolnego mikroRNA, krążących histonów i nukleosomów. Wskazano również rolę mi-RNA jako potencjalnego biomarkera.

W publikacji numer 2 (*Nowe spojrzenie na stare biomarkery zaangażowane w zmiany w mikrośrodowisku guza i ich znaczenie diagnostyczne w niedrobnokomórkowym raku płuca*) sprawdzono czy połączenie parametrów biochemicznych wchodzących w skład panelu stanu zapalnego i panelu metabolizmu glukozy z biochemicznymi markerami nowotworowymi istotnie wpłynie na podniesienie statystycznych wskaźników wartości diagnostycznej markerów nowotworowych. Biomarkery były analizowane pojedynczo, a następnie w panelach składających się z kombinacji od dwóch do pięciu, w celu oceny ich wartości diagnostycznych w różnicowaniu pacjentów z gruczolakorakiem od pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym płuca, jak również pacjentów ze stadium IIB od IIA i IIIA od IIB. Wykazane przez Doktorantkę korelacje pomiędzy stężeniami biomarkerów sugerują, że mikrośrodowisko guza płuca różni się biochemicznie w zależności od podtypu nowotworu, co może wpływać na patogenezę oraz progresję nowotworu. Doktorantka wykazała że uzupełnienie badań markerów nowotworowych stężeniami oznaczonych parametrów panelu stanu zapalnego i panelu metabolizmu glukozy poprawiło wartość diagnostyczną kombinacji biomarkerów różnicujących gruczolakoraka od raka płaskonabłonkowego płuca. Zaproponowane panele biomarkerów różnicują również pacjentów ze stadiami zaawansowania raka płuca IIB od IIA oraz IIIA od IIB.

W publikacji numer 3 (*Hepcydyna jako biomarker diagnostyczny w niedokrwistości u pacjentów z rakiem płuca*) oceniono przydatność diagnostyczną hepcydyny oraz cytokin

prozapalnych IL-6 i TNF- α i białek ostrej fazy CRP i SAA1 u operacyjnych pacjentów z rakiem płuca w kontekście oceny podstaw patogenezy niedokrwistości i stopnia jej ciężkości, jak również możliwości przewidywania występowania powikłania pooperacyjnego w postaci rozwinięcia się niedokrwistości pooperacyjnej. Doktorantka wykazała że hepcydyna i IL-6 pełnią istotną rolę w rozwoju niedokrwistości u pacjentów onkologicznych. Zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem hepcydyny a stężeniem hemoglobiny, wartością hematokrytu i liczbą erytrocytów z oznaczenia morfologii krwi obwodowej po zabiegu operacyjnym. Wykazano że oznaczenie stężenia hepcydyny i CRP może służyć do oceny różnicowej patogenezy niedokrwistości. Wyniki wskazują na potrzebę włączenia hepcydyny do praktyki klinicznej.

W publikacji numer 4 (*Analiza polimorfizmów MMP-2 -735C/T (rs2285053) i MMP-9 -1562C/T (rs3918242) w ocenie ryzyka zachorowania na raka płuca*) oceniono rolę polimorfizmów MMP-2 -735C/T (rs2285053) i MMP-9 -1562C/T (rs3918242) w kontekście ich potencjalnego wpływu na ryzyko zachorowania na raka płuca zarówno u pacjentów niepalących, jak i palących wyroby tytoniowe. Wyniki badań sugerują związek pomiędzy pochodzeniem etnicznym a ryzykiem wystąpienia mutacji w genie kodującym MMP-2. Różnice w stężeniach MMP-2 i MMP-9 zarówno wśród pacjentów z rakiem płuca, jak i osób zdrowych potwierdzają, że polimorfizm w regionie promotora genów *MMP-2* i *MMP-9* wpływa na ich poziom w surowicy. Wyniki stężeń MMP-2 i MMP-9 w grupie osób zdrowych niepalących i palących sugerują, że palenie tytoniu jest czynnikiem wywołującym procesy przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej, która może inicjować procesy nowotworzenia.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę, że nazwy genów piszemy kursywą. Proszę również o uzasadnienie dlaczego do badań wybrano wymienione wyżej polimorfizmy i jakie jest ich znaczenie biologiczne, jak bowiem wskazuje sama Doktorantka są to warianty o niskiej penetracji. Jakie są potencjalne mechanizmy wpływające na niską penetrację? Czy planowana jest ocena poziomu ekspresji mRNA badanych genów, ponieważ ten kluczowy etap nie został uwzględniony w przeprowadzonych badaniach.

W części poświęconej materiałom i metodom Doktorantka omówiła i scharakteryzowała grupy badane jak i kontrolne oraz wachlarz zróżnicowanych technik badawczych, które szczegółowo omówiono w publikacjach składających się na cykl. Proszę o podanie jakie inne metody można było wykorzystać w publikacji numer 4 (trzecia praca oryginalna) i czy mogły z nich zostać pozyskane informacje o innych zmianach w wybranych genach.

Balreva

Magister Katarzyna Wadowska w sposób prawidłowy zaplanowała, zaprojektowała i przeprowadziła badania których wyniki z sukcesem upubliczniła oraz zaprezentowała w postaci cyklu publikacji składających się na recenzowaną pracę doktorską. Postawione cele zostały osiągnięte dzięki dobrej organizacji pracy, jak i wsparciu oraz doświadczeniu Promotora w osobie dr hab. Marioli Śliwińskiej-Mossoń. Uzyskane wyniki pracy doktorskiej są dowodem na możliwości zastosowania wybranych biomarkerów, to jest IL-6, TNF-a, MMP-2, MMP-9, białek ostrej fazy (CRP i SAA1) oraz hepcydyny w szeroko pojętej diagnostyce raka płuca, na różnych etapach procesu diagnostycznego.

Należy podkreślić że wyniki uzyskane w ramach pracy doktorskiej mogą znaleźć potencjalne wykorzystanie w diagnostyce i prognozowaniu przebiegu raka płuca.

Podsumowując, praca została przygotowana w sposób właściwy, a pojedyncze błędy nie wpływają na jej ostateczną, wysoką ocenę.

Całkowity dorobek naukowy Doktorantki stanowi współautorstwo w 5 pracach oryginalnych i 1 pracy przeglądowej, sumaryczny IF wynosi 27.733 a punktacja MEiN 670. Wyniki zostały również zaprezentowane na konferencjach krajowych.

Z ogromną przyjemnością stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska mgr Katarzyny Wadowskiej spełnia warunki określone w art.187 ust 1 i 2 ustawy z dnia 20.lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy mgr Katarzyny Wadowskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Wnioskuje również do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani Magister Katarzyny Wadowskiej stosowną nagrodą ze względu na wysoką wartość naukową uzyskanych wyników jak i możliwość ich praktycznego wykorzystania.

z poważaniem,
KIEROWNIK
Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Ewa Balcerczak
Prof. dr hab. n. farm. **Ewa Balcerczak**