

Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej,  
Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej  
Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. WAM  
Centralny Szpital Weteranów  
90-549 Łódź ul. Żeromskiego 113

Łódź dn. 22.01.2024

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych  
Katarzyny Izabeli Wadowskiej**

pod tytułem  
***„Diagnostyczne i prognostyczne wykorzystanie oznaczeń  
potencjalnych biomarkerów raka płuca u pacjentów narażonych  
środowiskowo na ksenobiotyki dymu papierosowego”***

**Promotor: dr hab. Mariola Śliwińska-Mossoń**

**Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego  
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu**



Recenzję przygotowano na podstawie Uchwały nr.66/2023 Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z dnia 26.10.2023. Dotyczy ona rozprawy na stopień doktora nauk farmaceutycznych, która została przygotowana w formie cyklu publikacji naukowych poświęconych zagadnieniom oceny wykorzystania wybranych markerów biochemicznych w diagnostyce i prognozowaniu rokowania u pacjentów z rakiem płuca. Niezbędne badania zostały przeprowadzone w Katedrze Analityki Medycznej, Zakładzie Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu pod kierunkiem Pani dr.hab.n.med Marioli Śliwińskiej-Massoń.

Rak płuca pod względem występowania jest współcześnie drugim po raku piersi nowotworem złośliwym na Świecie (11,4%), który odpowiada jednak za największą ilość zgonów nowotworowych wynoszącą niemal 20% według danych WHO z roku 2020. Dla poprawy efektów leczenia i rokowania kluczowe wydaje się wdrożenie nowoczesnych bardziej czułych metod diagnostycznych pozwalających na wykrycie nowotworu we wczesnych stadiach zaawansowania co umożliwia radykalne leczenie chirurgiczne. W raku płuca o wyższym zaawansowaniu stosuje się poza klasycznym leczeniem systemowym coraz nowocześniejsze i skuteczniejsze terapie celowane na poziomie molekularnym i/lub immunologiczne jednak ograniczone do wybranej populacji chorych spełniających ściśle określone kryteria. Stosowane dotychczas narzędzia diagnostyczne i próby wdrażania badań przesiewowych nie spełniły pokładanych w nich oczekiwań. Szanse na uzyskanie znaczącego postępu w diagnostyce i terapii raka płuca oraz wydłużenie i poprawę jakości życia chorych stwarzają badania naukowe oparte o metody biologii molekularnej oraz zrozumienie procesów nowotworzenia na poziomie komórkowym. Na ich podstawie istnieje coraz więcej dowodów, że czynniki karcinogenne powodują niekorzystne zmiany w mikrośrodowisku guza co jest istotne dla przebiegu choroby, ogólnoustrojowej odpowiedzi organizmu i rokowania. Można więc przypuszczać, że analiza zmian zachodzących w mikrośrodowisku guza płuca i oznaczenie biomarkerów związanych z tymi procesami może pozwolić na lepsze poznanie podłoża rozwoju nowotworów złośliwych a przez to odegrać rolę we wczesnej diagnostyce i leczeniu onkologicznym.

Przedmiotem przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej było ustalenie wartości diagnostycznej łącznie 14 biomarkerów biochemicznych w wykrywaniu raka płuca, a także analiza możliwości ich potencjalnego zaimplementowania do diagnostyki w praktyce klinicznej oraz przewidywaniu rokowania w raku płuca. Do pracy zostały wytypowane biomarkery o istotnej roli w procesach zachodzących w mikrośrodowisku guza. Zostały one podzielone na 3 grupy nazwane „panelami”, z których pierwszy stanowił grupę markerów stanu zapalnego i obejmował cytokiny prozapalne IL-6 i TNF- $\alpha$ , metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej MMP-2 i MMP-9. Drugi panel stanowiły produkty metabolizmu glukozy, w tym glukoza, mleczan oraz dehydrogenaza



mleczanowa. Trzeci z paneli obejmował białka ostrej fazy będące wyznacznikiem ogólnoustrojowej odpowiedzi chorego na toczące się zmiany w środowisku nowotworowym jak CRP i SAA1. W załączonym cyklu pracy Autorka oceniła użyteczność kliniczną badanych biomarkerów w postaci zdolności do rozpoznania raka płuca we wczesnym stadium, możliwości doboru właściwego postępowania terapeutycznego, w tym ich wykorzystania do kwalifikowania do nowych terapii celowanych oraz ocenę sprawności organizmu wpływającej na procesy leczenia i potencjalne sukcesy terapeutyczne.

Uważam, że wybrany przez Doktorantkę temat badawczy skupiający się na ocenie wartości biomarkerów stanu zapalnego, markerów nowotworowych oraz wykładników metabolizmu glukozy w wykrywaniu raka płuca jest niezwykle nowoczesny i oryginalny oraz przedstawia istotne walory praktyczne.

#### **Forma rozprawy :**

Podstawę do recenzji rozprawy doktorskiej stanowi komplementarny cykl czterech publikacji, w tym 3 oryginalnych (IF=16,864, MNiSW=440 p) oraz jedna publikacja przeglądowa (IF=5,924, MNiSW=140 p), które zostały wydane w latach 2020 -2023 w liczących się czasopismach o zasięgu międzynarodowym o łącznym współczynniku IF wynoszącym 22,778 i punktacji MNiSW wynoszącej 580 pkt.

Recenzowana rozprawa doktorska liczy łącznie 169 stron wraz z właściwymi rozdziałami, spisem treści, wykazem skrótów, tabelami i rycinami, piśmiennictwem, tekstem 4 załączonych publikacji, odpowiadających im wnioskami, oświadczeniami współautorów, zgodami komisji Bioetycznej oraz wykazem bibliometrycznym pełnego dorobku naukowego Doktorantki wynoszącym łącznie IF=27,733 oraz Punktacją Ministerialną 670 punktów.

We wstępie Autorka skupia się w syntetyczny sposób na omówieniu zagadnień epidemiologii raka płuca z uwzględnieniem zachorowalności i śmiertelności. Przedstawia aktualnie obowiązującą klasyfikację TNM raka płuca zgodną z 8 Edycji UICC. Istotną część wstępu została poświęcona w sposób wyczerpujący omówieniu głównych czynników ryzyka zachorowania na raka płuca w tym paleniu tytoniu, narażenia środowiskowego i wpływowi znanych uwarunkowań genetycznych. Istotną częścią wstępu było przedstawienie najbardziej znanych biomarkerów użytecznych w wykrywaniu nowotworów złośliwych na tle wartościowych cytowań z literatury fachowej z oceną ich wartości diagnostycznej. W kolejnej części rozprawy Autorka przechodzi do przedstawienia cyklu opublikowanych artykułów, który omówię pokrótce poniżej.





Pierwszy artykuł „**Markery genetyczne w diagnostyce raka płuca**” opublikowany w *International Journal of Molecular Sciences*, 2020 stanowi podsumowanie stanu aktualnej wiedzy na temat molekularnych mechanizmów karcynogenezy, wykorzystywanych współcześnie biomarkerów genetycznych w diagnostyce przesiewowej raka płuca, metod ich oznaczania oraz metod leczenia raka płuca opartych na markerach genetycznych z wykorzystaniem terapii celowanych. W pracy tej podkreślono wysoką wartość diagnostyczną płynnej biopsji guza płuca i rolę mikroRNA jako potencjalnego markera w raku płuca.

Drugi artykuł oryginalny pod tytułem „**Nowe spojrzenie na stare biomarkery zaangażowane w zmiany w mikrośrodkowisku guza i ich znaczenie diagnostyczne w niedrobnokomórkowym raku płuca**” wydany w *Biomolecules* w 2021 r. został poświęcony analizie markerów podzielonych na trzy typy paneli biochemicznych:

- (1) nowotworowy- obejmujący CEA, CYFRA 21-1 oraz NSE,
- (2) stanu zapalnego- utworzony w tym IL-6 i TNF-a, białek ostrej fazy CRP i SAA1 a także metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej MMP-2, MMP-9,
- (3) metabolizmu glukozy- utworzony z glukozy, mleczanu i dehydrogenazy mleczanowej.

W tej ciekawej pracy przeanalizowano wartość diagnostyczną pojedynczych markerów oraz ich kombinacji w ramach wymienionych 3 paneli biochemicznych w celu oceny ich wartości diagnostycznych w różnicowaniu pacjentów z gruczolakorakiem od pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym płuca, jak również z uwzględnieniem stadiów zaawansowania raka płuca i ich potencjalnego wpływu na dobór leczenia i przebieg postępowania terapeutycznego. Autorka w tej publikacji wykazała iż uzupełnienie badań markerów nowotworowych o dodatkowe oznaczenie stężenia parametrów stanu zapalnego i panelu metabolizmu glukozy poprawiło wartość diagnostyczną w różnicowaniu raka płaskonabłonkowego i raka gruczolowego płuca i bardziej korespondowało z ostatecznym rokowaniem.

Trzeci artykuł oryginalny pod tytułem „**Hepcydyna jako biomarker diagnostyczny w niedokrwistości u pacjentów z rakiem płuca**” opublikowany w *Cancers* w 2023 r. miał na celu ocenę czy cytokiny stanu zapalnego IL-6 i TNF-a, białka ostrej fazy CRP i SAA1 oraz hormon hepcydyna odpowiedzialny za regulację dostępności żelaza dla krwinek czerwonych u pacjentów operowanych z powodu raka płuca odgrywają rolę w patogenezie niedokrwistości jak i stopnia jej ciężkości w okresie pooperacyjnym. Autorka wykazała istnienie dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem hepcydyny a stężeniem hemoglobiny, wartością hematokrytu i liczbą krwinek czerwonych po operacji. Wykazała,



ze oznaczenie poziomu hepcydy i białka CRP może być wykorzystane w różnicowaniu patogenezы niedokrwistości w okresie pooperacyjnym.

W artykule czwartym będący kolejnym doniesieniem oryginalnym pod tytułem „**Analiza polimorfizmów MMP-2 -735C/T (rs2285053) i MMP-9 -1562C/T (rs3918242) w ocenie ryzyka zachorowania na raka płuca**” opublikowanym w *International Journal of Molecular Sciences* w 2023 r. dokonano oceny wpływu polimorfizmów o niskiej penetracji w regionach promotorów genów MMP-2 i MMP-9 w ściśle określonych pozycjach znanych jako lokalizacje 735C/T (rs2285053) i -1562C/T (rs3918242) na potencjalne ryzyko zachorowania na raka płuca zarówno u pacjentów niepalących, jak i palących wyroby tytoniowe. Wykazano istotne statystycznie różnice stężeń genów MMP-2 i MMP-9 w populacji osób zdrowych jak i z rakiem płuca w zależności od palenia tytoniu sugerujące iż składniki dymu tytoniowego mogą zaburzać procesy przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej co może być czynnikiem inicjującym nowotworzenie.

Odnosząc się do wartości merytorycznej całej pracy uważam iż wnioski zamieszczone w rozprawie doktorskiej w sposób nie budzący wątpliwości wynikają z przeprowadzonych przez Autorkę imponujących badań naukowych i we właściwy sposób korespondują z treścią załączonych publikacji naukowych co pozwoliło na zabranie najważniejszych z nich w formie wniosków końcowych.

Należy nadmienić, że wyniki badań naukowych Autorów zostały wykorzystane w cytowaniach innych autorów. W przypadku rozprawy doktorskiej opartej o współautorski cykl publikacji istotnym elementem recenzji jest ocena indywidualnego udziału Doktoranta w publikacjach stanowiących rozprawę, które można ocenić na podstawie oświadczeń wszystkich współautorów. Wynika z nich iż Autorka zaplanowała, zaprojektowała oraz zrealizowała nowoczesne projekty naukowe w oparciu o bogate zaplecze badawcze i w doskonałej kooperacji z innymi uczestnikami badań czego wymiernym efektem były wysoko punktowane publikacje naukowe w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

#### **Uwagi krytyczne**

Mam pewien niedosyt co do wniosków końcowych, które powinny być swoistą klamrą spinającą najbardziej wartościowe wyniki badań uzyskanych w trakcie prowadzonych projektów naukowych, które moim zdaniem zostały potraktowane zbyt ogólnikowo. Jednak zastrzegam, że ta drobna uwaga nie ma wpływu na wysoką ocenę całości rozprawy gdyż uważny czytelnik rozprawy znajdzie interesujące go wnioski w treści poszczególnych publikacji.



## Podsumowanie

Recenzent po szczegółowej analizie przedłożonej dysertacji ocenia wysoko jej wartość merytoryczną oraz znajomość prezentowanych zagadnień zarówno od strony praktycznej jak i naukowej. Wyniki uzyskanych badań są oryginalne, rzetelne i oparte na niezwykle solidnym warsztacie badawczym, stosunkowo bogatym materiale klinicznym oraz posiadają unikalną i wysoką wartość praktyczną i poznawczą. Przedstawione przez Doktorantkę wyniki prac oraz wysunięte w oparciu o cykl artykułów wnioski odpowiadają na postawione założenia i cele badawcze. Uzyskane wyniki badań doskonale wpisują się w nowe kierunki badań zmierzających do lepszego zrozumienia skomplikowanych procesów karcynogenezy na poziomie mikrośrodowiska guza nowotworowego. Istotną wartością cyklu prac Autorki jest nowatorska i syntetyczna analiza przydatności klinicznej aż 14 biomarkerów biochemicznych w diagnostyce raka płuca oraz ocena ewentualnych korelacji pomiędzy nimi. Stanowią one istotny wkład w rozwój badań naukowych ukierunkowanych na poszukiwanie przydatnych klinicznie biomarkerów w rozpoznawaniu, różnicowaniu, określeniu rokowania i użyteczności w potencjalnym ich zastosowaniu do kwalifikacji do nowoczesnych terapii molekularnych w onkologii.

## Wniosek końcowy

W mojej opinii przedstawiona rozprawa doktorska Pani Katarzyny Izabeli Wadowskiej spełnia warunki określone w art.187 ust.1 i2 ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz.U.2018r. poz.1668 ze zmianami).

W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o kontynuowanie postępowania o nadanie Pani Katarzyny Izabeli Wadowskiej stopnia doktora nauk medycznych.

Wnioskuje także o wyróżnienie rozprawy z uwagi na jej niezwykle wysoką wartość merytoryczną, zakres wykonanych badań i nowatorskie podejście do zagadnień związanych z procesami karcynogenezy w raka płuca.

  
prof. nadzw. Sławomir Jabłoński  
chirurg klatki piersiowej  
ogólny i onkologiczny  
Nr ZUS 5063939 tel. 502 202 704