

**Ocena działalności naukowej, w tym osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę habilitacji  
oraz działalności dydaktyczno-organizacyjnej dr n. med. Ewy Kaznowskiej  
w związku z postępowaniem o nadanie Jej stopnia naukowego doktora habilitowanego  
nauk medycznych w dyscyplinie medycyna.**

**Tytuł osiągnięcia naukowego**

***Zastosowanie spektroskopii Ramana i spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)  
w diagnostyce histopatologicznej i poszukiwaniu markerów monitorowania leczenia na przykładzie  
wybranych typów nowotworów***

Recenzja została przygotowana na podstawie przedstawionej przez Kandydatkę dokumentacji zawierającej m. in. autoreferat, kopie publikacji stanowiących wymagane Ustawą „osiągnięcie naukowe” wraz z oświadczeniami współautorów oraz analizę bibliometryczną przygotowaną przez Bibliotekę Uniwersytetu Rzeszowskiego.

**1. Dane biograficzne, ocena rozwoju zawodowego Kandydatki**

Pani Ewa Kaznowska, doktor nauk medycznych, w latach 1984-1991 odbyła studia na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego. Swój rozwój zawodowy Kandydatka związała z rodzinnym Rzeszowem, gdzie w roku 1991 rozpoczęła pracę w Szpitalu Wojewódzkim nr 2 (obecnie Kliniczny Szpital Wojewódzki nr 2 w Rzeszowie). Uzyskała pierwszy i drugi stopień specjalizacji w dziedzinie patomorfologii, odpowiednio w latach 1994 i 1997. Swoje staże specjalizacyjne do kolejnych stopni w dziedzinie patomorfologii odbywała w latach 1992-94 pod kierunkiem dr Haliny Łebek-Bieleckiej, zaś w latach 1994-97 – pod kierunkiem prof. zw. dra hab. Andrzeja Kuliga. W roku 1999 objęła stanowisko Kierownika Zakładu Patomorfologii w Specjalistycznym Szpitalu Chorób Płuc w Rzeszowie (późniejszym Podkarpackim Centrum Chorób Płuc – obecnie w strukturach Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 w Rzeszowie), które piastuje do chwili obecnej. W roku 2005 Kandydatka otworzyła swój przewód doktorski w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polski w Łodzi, kończąc go w roku 2006 pozytywną obroną pracy doktorskiej w dziedzinie nauk medycznych w zakresie medycyny, pod tytułem *Histoklinika hamatomatów płucnych w świetle polimorfizmu G/C genu kodującego czynnik hamujący migrację makrofagów MIF*, wykonaną pod kierunkiem prof. zw. dra hab. med. Andrzeja Kuliga. Od roku 2008 dr Kaznowska jest również Kierownikiem Zakładu Patomorfologii w Szpitalu Specjalistycznym Podkarpackiego Ośrodka Onkologicznego w Brzozowie. Od roku 2017, gdy nastąpiło administracyjne włączenie Podkarpackiego Centrum Chorób Płuc do Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 w Rzeszowie, dr Kaznowska jest Kierownikiem Klinicznego Zakładu Patomorfologii tego Centrum, w skład którego wchodzi Zakład Patomorfologii Podkarpackiego Centrum Chorób Płuc i Zakład Patomorfologii Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego Nr 1 w Rzeszowie.

**Oceniając rozwój zawodowy Kandydatki uważam, że jest on prawidłowy i wskazuje na Jej duże zaangażowanie i zdolności organizacyjne, co zapewnia kierowanym przez Nią zespołom odpowiednie wykształcenie, nowoczesny sprzęt i właściwą organizację pracy.** W efekcie dokonanych przez dr Kaznowską usprawnień i wdrożeń, możliwe jest obecnie w rejonie podkarpackim rutynowe dokonywanie szybkiej, prawidłowej, kompletnej i dokładnej diagnostyki patomorfologicznej z zastosowaniem aktualnych standardów wiedzy medycznej, szczególnie w zakresie chorób nowotworowych płuc. Kierowany przez dr Kaznowską Kliniczny Zakład Patomorfologii został

wyposażony w nowoczesny sprzęt i wykonuje ok. 20 tysięcy badań rocznie. Znajdują się tam pracownie badań histopatologicznych, cytologicznych, histochemicznych, śródoperacyjnych i prosektoryjnych. Wysoką ocenę zawodowej pozycji dr Kaznowskiej potwierdza powołanie Jej od roku 2009 na Konsultanta Wojewódzkiego w dziedzinie patomorfologii na terenie województwa podkarpackiego.

## 2. Ocena rozwoju naukowego Kandydatki

Swój rozwój naukowy dr Kaznowska także związała z Uniwersytetem Rzeszowskim, gdzie w latach 2015-17 była zatrudniona jako adiunkt w Zakładzie Histologii i Embriologii Katedry Nauk Morfologicznych Wydziału Medycznego Uniwersytetu Rzeszowskiego. Od roku 2018 dr Kaznowska jest Kierownikiem Zakładu Patomorfologii Katedry Nauk Morfologicznych Wydziału Medycznego tego Uniwersytetu.

Za pierwszy etap rozwoju naukowego Kandydatki można uznać badania dotyczące porównania obrazów klinicznych hamartomatów płucnych (łagodnych guzków w płucach) z ich obrazami morfologicznymi oraz określenia związku polimorfizmu G/C regionu promotorowego genu *MIF* (*Macrophage Migration Inhibitory Factor*) z częstością występowania hamartomatów płucnych, wykonane w ramach pracy doktorskiej Kandydatki w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polski w Łodzi. W badaniach tych wykazała, że polimorfizm G/C w pozycji -173 genu *MIF* najprawdopodobniej nie ma związku z powstawaniem hamartomatów płuc, choć powstawanie zmian łagodnych w hamartomatach płucnych, podobnie jak w wielu innych narządach związane jest z mutacjami w genach *TSC1* i *TSC2*, które należą do genów supresorowych transformacji nowotworowej. W porównaniach rozkładów genotypów i częstości alleli w grupach pacjentów nie stwierdziła istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów i częstości alleli badanego polimorfizmu G/C genu *MIF* zależnych od struktury morfologicznej hamartomatów, zarówno w zakresie dominującej składowej tkankowej, jak i innych elementów utkania. Wyniki uzyskane w pracy doktorskiej Kandydatki zostały później opublikowane w dwóch pracach, w których dr Ewa Kaznowska była pierwszym autorem, zamieszczonych w czasopismach krajowych nie posiadających IF. Kolejnym etapem (być może o charakterze bardziej technicznym niż ściśle naukowym) było włączenie się Kandydatki w wieloosrodkowy program zastosowania telemedycyny do rutynowej diagnostyki płuc ze szczególnym uwzględnieniem rozpoznania nowotworów złośliwych. Program ten jest prowadzony od roku 2007 przez patomorfologów – ekspertów w zakresie patologii układu oddechowego z pięciu polskich ośrodków pulmonologicznych, wspomagających drogą telepatologii internetowej badania śródoperacyjne u chorych operowanych w Oddziale Torakochirurgii Szpitala w Zakopanem. Wyniki tego programu opublikowane zostały w trzech doniesieniach na konferencjach krajowych, których współautorką była dr Kaznowska. We współpracy z lekarzami Oddziału Torakochirurgii Podkarpackiego Centrum Chorób Płuc dr Kaznowska opublikowała w polskim czasopiśmiennictwie naukowym pracę kazuistyczną dotyczącą diagnostyki radiologicznej i histopatologicznej niezwykle rzadkiego rodzaju guza nowotworowego płuca, oraz przedstawiła doniesienie konferencyjne dotyczące badania odosobnionych guzów włóknistych opłucnej (u 14 pacjentów), do rozpoznania których obok badania tomograficznego wymagana była ocena histopatologiczna materiału pooperacyjnego, różnicowanego za pomocą odczynów immunohistochemicznych, w szczególności CD34 i markera Ki67. Pracę na ten temat zespół z udziałem dr Kaznowskiej opublikował również w *Polish Journal of Radiology* (bez IF). Z kolei, we współpracy naukowej z zespołami lekarzy ginekologów dr Kaznowska jako współautor opublikowała dwie znaczące prace dotyczące rozpoznania i leczenia mięsakeraków w drogach rodnych oraz w raku szyjki macicy, wydrukowane w *Oncology Reports* (IF=2,191) oraz w *Journal of Cancer Research and Therapeutics* (IF=0,791) w latach 2013-14, jak również prace kazuistyczne w tym zakresie, opublikowane w *Przeglądzie Menopauzalnym* (IF=0,190) w roku 2011 oraz w *Medicine* (IF=2,028) w roku 2017. We współpracy z zespołami lekarzy ginekologów z Uniwersytetu Medycznego w Lublinie oraz Sanoku w roku 2013 dr Kaznowska opublikowała w *Oncology Reports* (IF=2,191) pracę, w której poszukiwano korelacji

markera p53 i Ki67 z agresywnym przebiegiem mięsakeraków trzonu macicy. W roku 2011 dr Kaznowska nawiązała wieloletnią współpracę z prof. Pawłem Mazurem z Wydziału Genetyki Uniwersytetu Stanforda (Stany Zjednoczone – obecnie w MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas), dotyczącą badań roli szlaku sygnałowego NOTCH 2 i jego wewnątrzkomórkowej domeny Delta 1 w transformacji nowotworowej oraz podłożem genetycznym agresywnego przebiegu raka trzustki, co doprowadziło do Jej współautorstwa w ważnej pracy opublikowanej w roku 2016 w prestiżowym czasopiśmie *Genes & Development* (IF=9,413).

Szczególnie owocne pod względem rozwoju naukowego Kandydatki okazało się nawiązanie przez Nią od roku 2014 ścisłej współpracy z interdyscyplinarną i międzynarodową grupą (wraz z zespołem australijskim z Monash University oraz z Australian Synchrotron w Clayton) w ramach Centrum Innowacji i Transferu Wiedzy Techniczno-Przyrodniczej Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego. Razem z tą grupą, przy pomocy metod spektroskopowych w podczerwieni FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) oraz efektu Ramana i zastosowanie fizycznych modeli przetwarzania danych spektrometrycznych, Kandydatka zajęła się badaniem procesu nowotworzenia, oceną skuteczności chemioterapii, badaniem możliwości odróżnienia tkanki nowotworowej od tkanki zdrowej, określenia „markera spektroskopowego” zmiany nowotworowej, a także monitorowaniem przebiegu terapii onkologicznej, w odniesieniu do dotychczasowych obrazowych i biochemicznych metod stosowanych w diagnostyce patomorfologicznej. Wyniki pracy badawczej zespołu, w którym uczestniczyła Kandydatka, znalazły w latach 2016-2019 odbicie w dziewięciu publikacjach zamieszczonych w renomowanych czasopismach naukowych. Innowacyjne metody spektrometrii w podczerwieni Kandydatka wraz z zespołem zastosowała między innymi do badań tkanek nowotworowych pacjentów z rakiem piersi, rakiem płuc rakiem jelita grubego oraz do płynu mózgowo-rdzeniowego w chorobie Alzheimera, w różnych stadiach zaawansowania tych chorób. Sześć prac z cyklu tych dziewięciu publikacji, dotyczące badań tkanek piersi i płuc metodami spektroskopowymi FTIR i spektrometrią Ramana, konfrontowanych z wynikami rutynowych badań histopatologicznych tych tkanek, złożył się na przedmiot osiągnięcia naukowego dr Kaznowskiej, wymaganego w postępowaniu habilitacyjnym. W dwóch z trzech pozostałych publikacji z cyklu wspomnianych dziewięciu prac, opublikowanych w *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (IF=2,831) w roku 2017, autorski wkład dr Kaznowskiej i dr. inż. Joanny Depciuch był równy, zaś w trzeciej pracy, przyjętej do druku w roku 2019 w *Journal of Alzheimer Disease* (IF=3,476), dr inż. Depciuch była pierwszym autorem, zaś dr Kaznowska - jednym ze współautorów. Świadczy to o znaczącym wkładzie autorskim dr Kaznowskiej w pracach całego zespołu Centrum Innowacji i Transferu Wiedzy Techniczno-Przyrodniczej.

Dr Kaznowska uczestniczyła w wielu zjazdach krajowych i zagranicznych, co znalazło odbicie w pięciu opublikowanych streszczeniach z konferencji zagranicznych z lat 2004-2016, których była współautorem. Na uwagę zasługuje także udział dr Karnowskiej w przygotowaniu krajowych standardów dotyczących oceny makroskopowej materiału biopsyjnego i operacyjnego u chorych na nowotwory złośliwe oraz zaleceń krajowych dotyczących zasad opracowania makroskopowego materiałów onkologicznych do badań patomorfologicznych, opublikowanych w *Polish Journal of Radiology* w roku 2015.

**Ogólny dorobek naukowy Pani dr med. Ewy Kaznowskiej oceniam jako w pełni zasługujący na dopuszczenie Kandydatki do kolejnych etapów postępowania habilitacyjnego. Kandydatka jest ogólnie autorem lub współautorem 22 oryginalnych prac naukowych, w tym 16 prac w czasopismach posiadających IF, 4 – bez IF oraz 6 prac kazuistycznych, o łącznej wartości IF=40,254 i 467 punktach MNiSW. Po doktoracie została autorem lub współautorem łącznie 19 publikacji także o łącznej wartości IF=40,254 i 454 punktach MNiSW, w tym 15 prac oryginalnych i 4 prac kazuistycznych. Tak więc prawie cały „punktowany” dorobek naukowy Kandydatki przypada na okres po Jej doktoracie. Warto przy tym zauważyć, że względny udział cyklu sześciu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe Kandydatki (liczba prac- 6, łączny IF=16,427, łączne punkty MNiSW=195) względem Jej dorobku po doktoracie jest dość istotny (odpowiednio 31%, 41% i 43%).** Stosunkowo

niskie jak na kandydata do habilitacji liczby cytowań Jej prac (63-78, zależnie of źródła) oraz wartości indeksu Hirsha (IH=5) może tłumaczyć krótki okres czasu (nie więcej niż 6 lat) od ukazania się w druku wspomnianych wyżej publikacji.

### 3. Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę habilitacji

Jako swoje osiągnięcie naukowe – zgodnie z terminologią ustawową - dr n. med. Ewa Kaznowska przedstawia cykl sześciu publikacji zamieszczonych w tabeli poniżej, pod wspólnym tytułem: *Zastosowanie spektroskopii Ramana i spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) w diagnostyce histopatologicznej i poszukiwaniu markerów monitorowania leczenia na przykładzie wybranych typów nowotworów.*

W tekstach tych publikacji (prace nr. 1,5 i 6 w tabeli poniżej) udział dr Kaznowskiej jest zaznaczony jako „równy udział autorów” (*contributed equally*) lub jako „wspólny pierwszy autor” (*equal first author* – praca nr. 2). Kandydatka jest pierwszym autorem dwóch publikacji (nr. 1 i nr. 2). Zgodnie z informacją zamieszczoną w tekstach publikacji nr.2 i nr. 6, udział Kandydatki polegał na zaprojektowaniu strategii eksperymentu, zebraniu i przygotowaniu próbek do analizy, analizie danych oraz współredakcji tekstu publikacji. Nie mam więc wątpliwości co do zasadniczego udziału dr Kaznowskiej w przygotowaniu i realizacji zadań interdyscyplinarnego zespołu, wspólnie z którym wykazała, że „...badanie spektroskopowe Ramana i FTIR z jednoczesnym zastosowaniem analizy głównych składowych PCA [Principal Component Analysis], na przykładach raka płuca i raka piersi, umożliwia odróżnienie tkanki nowotworowej od tkanki zdrowej, co może być pomocne w postawieniu rozpoznania histopatologicznego nowotworu oraz określeniu radykalności zabiegu operacyjnego....Analiza spektralna pozwala również na ocenę uszkodzenia tkanki nowotworowej po chemioterapii. Wykorzystując materiał tkankowy pochodzący z raka płuca wykazałam, że spektroskopia ramanowska i spektroskopia w podczerwieni FTIR mogą być pomocne w określeniu podtypu raka i stopnia jego złośliwości.” (Załącznik nr. 2 - Autoreferat, str. 5-6).

	Autorzy	Tytuł pracy	Tytuł czasopisma	Rok publikacji	IF	pkt. MNiSW	% wkładu Kandyd.	Uwagi
1	E. Kaznowska , K. Łach*, J. Depciuch, J. Chaber, A. Koziorowska, S.Slobodian, A. Chlebus, J. Cebulski	Application of infrared spectroscopy for the identification of squamous cell carcinoma (lung cancer). Preliminary study	Infrared Physics and Technology	2018	1,851	25,0	3?	równy udział autorów
2	E. Kaznowska , J. Depciuch , K. Łach, M. Kołodziej, A. Koziorowska, J.Vongsvivut, I. Zawlik, M. Cholewa, J. Cebulski	The classification of malignancy by FTIR, PCA-LDA analysis and a physics-based computational model	Talanta	2018	4,244	40,0	20?	wspólny pierwszy autor
3	J. Depciuch, E. Kaznowska, K. Szmuc, I. Zawlik, M. Cholewa, P. Heraud, J. Cebulski	Comparing paraffined and deparaffinized breast cancer tissue samples and an analysis of Raman spectroscopy and infrared methods	Infrared Physics and Technology	2016	1,713	25,0	51?	
4	J. Depciuch, E. Kaznowska, I. Zawlik, R. Wojnarowska, M. Cholewa, P. Heraud, J. Cebulski	Application of Raman spectroscopy and infrared spectroscopy in the identification of breast cancer	Applied Spectroscopy	2016	1,529	30,0	52?	
5	J. Depciuch , E. Kaznowska , S. Golowski, A.Koziorowska, I. Zawlik, M. Cholewa, K. Szmuc, J. Cebulski	Monitoring breast cancer treatment using a Fourier transform infrared spectroscopy based computational model	Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	2017	2,831	35,0	17?	równy udział autorów
6	I. Zawlik , E. Kaznowska , J. Cebulski, M. Kołodziej, J. Depciuch, J. Vongsvivut, M. Cholewa	FPA-FTIR microspectroscopy for monitoring chemotherapy efficacy in triple-negative breast cancer	Scientific Reports (Nature)	2016	4,259	40,0	3?	równy udział autorów
<b>Łącznie:</b>						<b>16,427</b>	<b>195</b>	

Natomiast powinnością recenzenta jest rozważenie czysto formalnej trudności w jednoznacznym ilościowym określeniu procentowego wkładu Kandydatki do tych publikacji na podstawie oświadczeń współautorów o ich indywidualnym wkładzie w pracę (Załącznik nr. 4). Dla przykładu, dr Karolina Łach w oświadczeniu dotyczącym pracy nr.1 ocenia swój udział jako 3% - co oznaczałoby taki właśnie udział Kandydatki, wobec równego udziału autorów tej pracy. Z kolei dr inż. Joanna Depciuch w oświadczeniu dotyczącym pracy nr. 2 szacuje swój udział na 20% - zatem taki byłby też udział Kandydatki. W Załączniku Nr. 4 brak oświadczenia dra P. Heraud o swoim udziale w pracach nr. 3 i nr. 4 – szacując go jako 3%, podobnie jak udziały innych współautorów tych prac, otrzymuje się względne odpowiednie udziały Kandydatki 51% i 52%. Podobne wątpliwości formalne dotyczą prac nr. 5 i 6 z powyższej tabeli, gdzie udziały dr inż. Joanny Depciuch oraz prof. Izabeli Zawlik współautorki oceniają odpowiednio jako 17% i 3%, co - wobec równych udziałów tych współautorek z Kandydatką – oznaczałoby przypisanie takich właśnie udziałów dr Kaznowskiej w tych pracach. Nie mam wątpliwości, że merytoryczny wkład Kandydatki do wszystkich prac wymienionych w powyższej tabeli w pełni uzasadnia przedstawienie cyklu tych prac jako Jej osiągnięcia naukowego, niemniej **konieczne jest formalne wyjaśnienie względnego udziału współautorów oraz Kandydatki w ich realizacji.**

Należy podkreślić interdyscyplinarny charakter badań Kandydatki, w których współpraca fizyków specjalizujących się w spektrometrii molekularnej pozwala dostarczyć lekarzowi – specjalście w dziedzinie patomorfologii - nowych narzędzi i parametrów fizycznych do ilościowej oceny zmian nowotworowych w badanym przez niego materiale, umożliwiając ocenę postępów w procesie leczenia chorób nowotworowych i poprawę skuteczności tych procesów, np. w chemioterapii. Spektrometria w podczerwieni (IR) z zastosowaniem transformaty Fouriera FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*) oraz spektrometria Ramana poprzez analizę linii i pasm rotacyjnych czy wibracyjnych np. struktur białkowych w zakresie podczerwieni ( $400-4000\text{ cm}^{-1}$ ), dostarczają informacji o strukturze chemicznej tkanki, a w szczególności umożliwiają wykrycie zmian w wiązaniach chemicznych i funkcjonalnych na poziomie molekularnym. Warunkiem pojawienia się linii i pasm w widmie absorbcyjnym w podczerwieni jest zmiana momentu dipolowego cząsteczki, zaś warunkiem pojawienia się linii i pasma w widmie ramanowskim - zmiana jej polaryzowalności, dlatego łączne zastosowanie obu metod pozwala ułatwić i wykryć rotacje i drgania nieaktywne w badaniach czysto absorbcyjnych lub czysto emisyjnych. Dodatkowymi niezwykle pomocnymi narzędziami są obróbka cyfrowa zmierzonych widm i analiza ich podstawowych składników za pomocą PCA (*Principal Component Analysis*), czy obliczanie drugich pochodnych widm wraz z ich multiplikatywną korektą, EMSC (*Extended Multiplicative Signal Correction*) oraz zastosowaniem funkcji Lorentza. W wyniku stosowania cyfrowej obróbki obrazów mikroskopowych próbek oraz coraz bardziej wyrafinowanych matematycznie metod dokonywania szybkiej transformaty Fouriera widm w podczerwieni, możliwe jest obecnie dokonywanie analizy spektralnej w podczerwieni w ściśle zlokalizowanych położeniach (pojedynczych pikselach) cyfrowego obrazu próbki w płaszczyźnie jej ogniskowania, FPA-FTIR (*Focal Plane Array FTIR*). Tak więc patomorfolog otrzymuje nowe narzędzie, z pomocą którego możliwe jest skonfrontowanie swojego rozpoznania opartego na obrazie mikroskopowym z ilościową informacją dotyczącą określonych struktur molekularnych i chemicznych w wybranych lokalizacjach w obrazie patomorfologicznym ocenianego materiału.

Ogólny schemat badań przedstawionych w cyklu sześciu prac „habilitacyjnych” Kandydatki jest dość podobny: próbki wybranych, opisanych po względem patomorfologicznym i przygotowanych do pomiarów spektralnych tkanek pacjentów nowotworowych poddawane są analizie spektralnej w podczerwieni (FTIR i Raman) celem ilościowej oceny występowania i stężenia określonych struktur molekularnych widocznych w postaci charakterystycznych dla nich linii i pasm (lokalnych maksimumów) w uzyskanych widmach. Widma te poddawane są procedurom matematycznym, z uwzględnieniem modelu opartego na założeniach fizycznych, dającego wyniki w postaci ilościowej i konfrontowane ze znaną uprzednio klasyfikacją patomorfologiczną badanych próbek. Analizę spektralną można przeprowadzić w ściśle zlokalizowanym obszarze obrazu mikroskopowego próbki, możliwe więc jest

śledzenie zmian w różnych obszarach tej samej próbki, a także zmian w odpowiednio scharakteryzowanym morfologicznie obszarze w próbkach pochodzących od tego samego pacjenta (zaawansowanie, ocena indywidualna skuteczności leczenia), jak też pochodzących od różnych pacjentów i w różnych lokalizacjach na obrazie mikroskopowym (charakterystyka rodzajów nowotworów i ich zaawansowania, badanie mechanizmów nowotworzenia).

W przedstawionych do oceny publikacjach „habilitacyjnych” Kandydatki wyraźnie zarysowuje się postęp w rozwiązywaniu kolejnych trudności, na jakie napotykała wykorzystując technikę spektrometrii FTIR i Ramana w swoich badaniach. Istotną rolę w tych badaniach odgrywa właściwe przygotowanie próbki materiału tkankowego do badań spektrometrycznych. W rutynowej diagnostyce histopatologicznej materiał jest utrwalany w formalinie i zatapiający w bloczkach parafinowych. Do dalszych badań stosowane są próbki o grubościach ok. 5 mikrometrów, uzyskane z sekcji bloczków za pomocą mikrotomu. W pracy nr. 3 (*Comparing paraffined and deparaffinized breast cancer tissue samples and an analysis of Raman spectroscopy and infrared methods*) przeanalizowany został wpływ metody przygotowania próbek materiału tkankowego dotyczącego raka piersi na wyniki spektrometrii FTIR i Ramana dla tego materiału. Badano próbki przygotowane rutynowo (parafinowane) oraz odparafinowane – przygotowane tak, aby usunąć z nich parafinę i wysuszyć. Wobec braku różnic w wynikach analizy spektrometrycznej w zakresie 500-3000  $\text{cm}^{-1}$  obu rodzajów próbek stwierdzono, że możliwe jest wykorzystanie w spektrometrii FTIR i Ramana próbki przygotowanej według standardów rutynowo stosowanych w diagnostyce histopatologicznej, co znacznie ułatwia prowadzenie prac spektrometrycznych na próbkach tkanek pacjentów. Wynik ten uzyskano poprzez systematyczną analizę widm (FTIR i Ramana) dla 16 (8 standardowych i 8 deparafinowanych) próbek materiału pobranego z gruczołów piersiowych pacjentek, u których dokonano mastektomii po uprzedniej nieskutecznej chemoterapii, przy czym część próbek pobrana została z tkanek zdrowych, zaś część – ze zmienionych nowotworowo, o różnym stopniu zaawansowania. Przypisano pasma w widmach odpowiednim związkom (np. tyrozyna, białka i tłuszcze) występującym w badanych próbkach i wykazano różnice w określonych obszarach spektralnych pomiędzy widmami tkanek zdrowych i tkanek zmienionych nowotworowo.

Cykl prac „habilitacyjnych” Kandydatki otwierają dwie prace dotyczące analizy FTIR i Ramana tkanek raka płuca. W pracy nr. 1 (*Application of infrared spectroscopy for the identification of squamous cell carcinoma (lung cancer). Preliminary study*), której pierwszym autorem jest dr Kaznowska wspólnie z dr Kornelią Łach, dokonano porównania widm FTIR i Ramana próbek zdrowych i nowotworowo zmienionych tkanek pochodzących z płuc dziesięciu pacjentów z rakiem płuc o różnym stopniu zaawansowania. Wykazano, że w określonych przedziałach zmierzonych widm występują różnice pomiędzy tkankami zdrowymi a zmienionymi nowotworowo. W obszarach widm związanych z emisją sygnału związanego ze strukturami białkowymi, analiza PCA (*Principal Component Analysis*) nie wykazała znaczących różnic, natomiast w widmach Ramana obserwowano przesunięcia częstotliwości występowania maksimów pomiędzy widmami tkanek zdrowych i zmienionych nowotworowo, widoczne również w analizie PCA dla wybranych widm, zapewne związane ze zmianą składu chemicznego tkanki zdrowej i nowotworowej, szczególnie w zakresie widmowym dla kolagenu i glikogenu oraz zmianami konformacji i składu struktur białkowych, różnych dla tkanek zdrowych i zmienionych nowotworowo. W drugiej pracy z tego cyklu (*The classification of malignancy by FTIR, PCA-LDA analysis and a physics-based computational model*), również z dr Kaznowską i dr. inż. Depciuch jako jej pierwszymi autorami, podjęto próbę różnicowania pomiędzy dwoma typami histologicznymi raka płuc o różnym stopniu zaawansowania na materiale uzyskanym od 37 pacjentów. Do obróbki widm zastosowano metodę PCA-LDA (*Principal Component Analysis-Linear Discriminant Analysis*). Analizując uzyskane widma, przypisano pasma sygnałów wibracyjnych odpowiednim strukturom molekularnym w badanych próbkach, stwierdzając występowanie różnic umożliwiających rozróżnienie pomiędzy typami histologicznymi zdiagnozowanego raka płuca oraz ocenę stopnia ich zaawansowania.

W pozostałych trzech pracach dotyczących zastosowania spektroskopii FTIR i Ramana w diagnostyce i ocenie stopnia zaawansowania raka piersi (publikacje nr. 4, 5 i 6) Kandydatka potwierdziła potencjalną kliniczną przydatność tej metody. W publikacji nr. 4 (*Application of Raman spectroscopy and infrared spectroscopy in the identification of breast cancer*) spektrometria porównawcza dotyczyła materiału uzyskanego z tkanek zdrowych, tkanek nowotworowych przed chemoterapią, tkanek nowotworowych po chemoterapii oraz zdrowych tkanek z okolic zmiany nowotworowej. Najwyraźniejsze zmiany w widmach tkanek nowotworowych dotyczyły obszarów białek cukrów, karotenu i lipidów, co zachęca do określenia ich jako markerów zmiany nowotworowej, a także umożliwia lepsze zrozumienie etiologii raka piersi. W publikacji nr. 5 (*Monitoring breast cancer treatment using a Fourier transform infrared spectroscopy based computational model*) zespół rozwinął metodykę analitycznego opracowania widm w podczerwieni poprzez zastosowanie dla ich składowych transformacji Kramersa-Kroniga i procedury optymalizacyjnej dla ich opisu poprzez parametry funkcji Lorentza. W wyniku tej analizy utworzony został model fizyczny oparty na porównaniu prawdopodobieństw wystąpienia mocy oscylatorów dla określonych grup funkcjonalnych w widmie, odpowiadających zmianom charakteryzującym tkanki zdrowe i tkanki zmienione nowotworowo. Pozwala to, w konfrontacji z oceną kliniczną badanych próbek, ocenić ilościowo odpowiedź w procedurze chemioterapii pacjentki jako dobrą, częściową lub brak odpowiedzi. Opracowany model fizyczny mógłby więc w przyszłości znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej leczenia raka piersi.

Dalsze rozwinięcie pracy zespołu w tym kierunku stanowi praca nr. 6 (*FPA-FTIR microspectroscopy for monitoring chemotherapy efficacy in triple-negative breast cancer*), w której autorzy proponują zastosowanie spektroskopii FTIR i Ramana oraz PCA (*Principal Component Analysis*) do monitorowania skuteczności leczenia najbardziej złośliwych, tzw. potrójnie ujemnych raków piersi. W przypadku raka tego rodzaju nie występują receptory estrogenowy i progesteronowy, brakuje również ekspresji genu EGF R2 (*Epidermal Growth Factor Receptor 2*), co (praktycznie w ok. 70 % przypadków) ogranicza skuteczność terapii celowanej. Autorzy uważają zastosowaną przez nich spektroskopię w podczerwieni za szczególnie przydatną do oceny materiału pobranego na różnych etapach procesu leczenia tego samego pacjenta, wykazując zgodność pomiędzy jego obrazem patologicznym i klinicznym. Jest to więc potencjalnie cenna technika do monitorowania przebiegu chemioterapii i jej celowości dla trudnych do leczenia potrójnie ujemnych raków piersi.

Obecnie Kandydatka przygotowuje do badań spektroskopowych materiał od ponad 50 chorych z rakiem jelita grubego w różnym stopniu zaawansowania, leczonych chemioterapią.

**Z ogólnego punktu widzenia oceniam przedstawiony przez Kandydatkę cykl prac (już uprzednio pozytywnie zrecenzowanych przez redakcje czasopism i opublikowanych) jako wnoszący znaczny wkład w dziedzinie patomorfologii, o wysokich walorach naukowych i poznawczych oraz o wysokim potencjale innowacyjno-wdrożeniowym. Zastrzeżenia budzi jednak brak w autoreferacie Kandydatki pełniejszego opisu tych prac (szczególnie zupełny brak opisu pracy nr.6) w kontekście ogólnej przydatności spektrometrii FTIR i Ramana do rutynowej pracy histopatologa. Zrozumiałym jest dla mnie brak szczegółowej wiedzy lekarza na temat fizycznych i matematycznych podstaw metodyki stosowanej przez interdyscyplinarny zespół, z którym współpracuje. Oczekiwałbym jednak od doświadczonego i praktykującego lekarza patomorfologa pełniejszej oceny możliwości klinicznego zastosowania przedstawionej w Jej pracach metody, lub oceny tych prac jako etapu badawczego – wtedy cenne byłoby wskazanie przez Kandydatkę kierunków dalszego rozwoju tej metody, z punktu widzenia klinicznego, a w szczególności - w jakich przypadkach rutynowych rozpoznaw histopatologicznych zastosowanie tej techniki miałyby szczególnie istotne znaczenie. Wyjaśnienia od strony formalnej wymaga również ostateczna ocena procentowego udziału Kandydatki w przedstawionym jako Jej osiągnięciu badawczym cyklu prac, w szczególności tych, których była „wspólnym pierwszym autorem” lub „wniosła równy udział” z jednym z Jej współautorów.**

#### **4. Ocena działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej oraz współpracy międzynarodowej Kandydatki**

W toku swojej pracy zawodowej dr Kaznowska regularnie uczestniczy w cotygodniowych międzydyscyplinarnych konsultacjach kliniczno-patologicznych z udziałem specjalistów z oddziałów pulmonologii i torakochirurgii oraz radiologów. Konsultuje także przedoperacyjnie pacjentów torakochirurgicznych. Stale współpracuje z Kliniką Ginekologii i Położnictwa Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego Nr. 1 w Rzeszowie, publikując wspólne prace, a także z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie i Oddziałem Ginekologii i Położnictwa Szpitala Powiatowego w Sanoku. Jako członek Polskiego Towarzystwa Patologów i Oddziału rzeszowskiego Polskiego Towarzystwa Anatomicznego, regularnie uczestniczy w posiedzeniach naukowych tych Towarzystw, prowadzi także wiele wykładów ogólnych dotyczących patologii onkologicznej płuc, opłucnej, kości czy przewodu pokarmowego. W latach 2012 i 2014 prowadziła wykłady specjalistyczne na kursach szkoleniowych. Od roku 2015 prowadzi zajęcia dydaktyczne w Katedrze Nauk Morfologicznych Uniwersytetu Rzeszowskiego, prowadząc seminaria z histologii, embriologii i cytofizjologii dla studentów Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Rzeszowskiego, oraz jest koordynatorem zajęć z patomorfologii dla studentów kierunku lekarskiego. Współpracuje z Międzynarodowym Stowarzyszeniem Studentów Medycyny (IFMSA) i opiekuje się rozwojem naukowym swoich studentów organizując dla nich zajęcia dodatkowe w postaci „warsztatów patomorfologicznych”. W 2018 roku z inicjatywy Dziekana Wydziału Medycznego UR zorganizowała kurs dla pracowników Uniwersytetu w Tarnopolu. W tym samym roku, w uznaniu swojej działalności dydaktyczno-popularyzatorskiej otrzymała nagrodę Rektora UR „Lider Uniwersytetu Rzeszowskiego”. Jest promotorem pomocniczym dwóch prac doktorskich i kierownikiem dwóch projektów UR dotyczących badań molekularnych i spektroskopowych nowotworów oraz polimorfizmu genowego w wybranych typach niedrobnokomórkowego raka płuca. Jest członkiem grupy roboczej ekspertów narządowych Polskiego Towarzystwa Patologów, uczestnicząc w opracowywaniu standardów oceny makroskopowej materiału biopsyjnego i operacyjnego u chorych na nowotwory złośliwe. Uczestniczyła w wielu naukowych zjazdach krajowych i zagranicznych. W wyniku nawiązanej w 2011 współpracy z Uniwersytetem Stanforda uczestniczyła czynnie w *Second AACR International Conference on Frontiers in Basic Cancer*. Recenzuje wnioski badawcze dla Ministerstwa Obrony Narodowej, oraz prace dla czasopisma *European Journal of Clinical and Experimental Medicine*. W 2018 roku w ramach współpracy z firmą polsko-amerykańską była współwykonawcą i opiekunem medycznym regionalnego projektu badawczo-rozwojowego dotyczącego analizy danych pozyskanych z tkanek raka piersi metodą rezonansu magnetycznego (MRI). W ramach porozumienia międzywydziałowego pomiędzy Wydziałem Medycznym i Wydziałem Matematyczno-Przyrodniczym UR dr Kaznowska jest obecnie odpowiedzialna za realizację współpracy ze strony Wydziału Medycznego.

**Oceniam pozytywnie działalność dydaktyczną, popularyzatorską i organizacyjną dr med. Ewy Kaznowskiej. Należy jednak z obowiązku recenzenckiego zauważyć, że Kandydatka nie była ani kierownikiem ani współwykonawcą grantu, nie odbyła też stażu zagranicznego, choć można uznać Jej długoletnią współpracę z prof. Mazurem (Stanford, USA) za element takiego stażu. Widoczne jest poważne zaangażowanie Kandydatki w bieżące prace organizacyjne Uniwersytetu Rzeszowskiego, a w szczególności Jej ścisła współpraca z Centrum Innowacji i Transferu Wiedzy Techniczno-Przyrodniczej Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego. Wskazuje to na duże umiejętności organizacyjne i zdolność do współpracy interdyscyplinarnej Kandydatki.**



## 5. Wnioski końcowe

W mojej opinii, dr n.med. Ewa Kaznowska spełnia większość wymogów formalnych i zwyczajowych określonych w art. 16 ust.2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jedn., Dz. U. z dnia 27 września poz. 1789), stawianym kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego. Dr n. med. Ewa Kaznowska jest uznanym specjalistą w dziedzinie patomorfologii, nauczycielem akademickim w zakresie medycyny, umiejącym nawiązać współpracę, wskazać kierunki badań i wykorzystać w swojej pracy naukowej w dziedzinie medycyny wyniki badań międzynarodowych zespołów interdyscyplinarnych wykorzystujących współczesne metody fizyczne. Konsekwencją współpracy w takim zespole jest jednak trudność w ocenie wkładu indywidualnych autorów do publikacji będących efektem pracy całego zespołu. Stąd konieczne jest ponowne uzgodnienie z współautorami ich oświadczeń o indywidualnym wkładzie w publikacje składające się na osiągnięcie naukowe Kandydatki (Załącznik nr. 4) i dołączenie korekty tego Załącznika do materiałów przedstawionych Komisji Habilitacyjnej. Pozwoli to uzgodnić formalną ocenę wkładu Kandydatki z faktycznym, merytorycznym Jej wkładem, który w mojej opinii w pełni uzasadnia przedłożenie prac wymienionych w tabeli powyżej jako Jej osiągnięcia naukowego.

Stwierdzam, że zarówno dorobek naukowy jak i prowadzona przez dr med. Ewę Kaznowską działalność dydaktyczna i popularyzatorska są wystarczające, zaś przedstawiony cykl sześciu publikacji o łącznym IF = 16,427 i sumie punktów MNiSW 195 spełnia podstawowe wymogi formalne stawiane rozprawom habilitacyjnym.

Przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pani dr n. med. Ewy Kaznowskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego – po przedstawieniu powołanej przez Centralną Komisję do Spraw Stopni i Tytułów Komisji Habilitacyjnej korekty Załącznika Nr. 4.



Prof. dr hab. Michael Waligórski

Kraków, 25 listopada 2019 r.