

*Keccego parytye
Wubrek o tyndelen*
Przewodnicząca
Rady Dyscypliny Nauk Medycznych
prof. dr hab. Ewa Sadowska-Kiepa
Katedra Nauk Fizjologiczno-Medycznych
AWF Katowice

Katowice, dn. 23 maja 2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Marleny Budek

pt. „*Ocena zależności między melatoniną, sekrecją wybranych adipokin, a wykładnikami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w przebiegu nowotworów neuroendokrynych. Nowe, potencjalne markery diagnostyczne.*”

Na wstępie pragnę podkreślić, że tematyka badawcza podjęta przez Doktorantkę jest ważna i interesująca z uwagi na obserwowany w świecie, w tym również w Polsce, postępujący wzrost zachorowalności na nowotwory neuroendokryne, które często określa się mianem nietypowych. Ponieważ nie dają charakterystycznych objawów, a szybka ich diagnostyka medyczna nie jest łatwa, podjęcie próby zidentyfikowania biomarkerów ułatwiających ich wykrycie pozostaje dużym wyzwaniem. **Dlatego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że wyniki badań przedstawione w rozprawie doktorskiej mgr Marleny Budek mają istotną wartość poznawczą i potencjalną przydatność w postępowaniu terapeutycznym.**

Manuskrypt, który otrzymałam do oceny, to liczące 241 strony opracowanie o układzie treści typowym dla prac doświadczalnych. Stanowi ją 6 głównych rozdziałów opatrzonych streszczeniem w języku polskim i angielskim, wykazem tabel i rycin, piśmiennictwem oraz kopią dokumentu potwierdzającego otrzymanie zgody komisji bioetycznej na przeprowadzenie badań. Ponadto, na początku dysertacji Autorka zamieściła wykaz skrótów użytych w pracy. Dokumentację uzyskanych wyników badań stanowi 8 tabel oraz 28 rycin.

„Wstęp”

W bardzo obszernej części przeglądowej („Wstęp”) Autorka wyodrębniła 4 podrozdziały. W pierwszym z nich przedstawiła charakterystykę nowotworów neuroendokrynych z klasyfikacją ze względu na czynność hormonalną, pochodzenie embrionalne i lokalizację guza oraz szczegółowo, w oparciu o szeroko przywołaną literaturę, opisała czynniki epidemiologiczne i etiologiczne ich rozwoju. W dalszej części tego podrozdziału opisała stosowane w medycynie sposoby rozpoznania nowotworów neuroendokrynych i metody ich leczenia. Doktorantka dokładnie opisała diagnostykę

biochemiczną, obrazową, radioizotopową i patomorfologiczną. W kolejnym podrozdziale przedstawiła rolę stanu zapalnego w kancerogenezie, zwracając przy tym uwagę na fakt, iż prawie 20% wszystkich nowotworów poprzedza przewlekły stan zapalny inicjowany przez liczne cytokiny i chemokiny. Ponieważ konsekwencją stanu zapalnego może być zwiększona produkcja reaktywnych form tlenu (ROS), które mają zdolność do niespecyficznego oddziaływania ze składnikami komórek, Autorka w kolejnym podrozdziale wyjaśniła związek stresu oksydacyjnego ze stanem zapalnym i nowotworzeniem. Omówiła również enzymatyczne i nieenzymatyczne mechanizmy antyoksydacyjne, zwracając przy tym szczególną uwagę na rolę melatoniny w ochronie organelli komórkowych przed uszkodzeniami wywołanymi przez wolne rodniki. W rozdziale czwartym Doktoranta obszernie opisała endokrynne funkcje tkanki tłuszczowej, z uwzględnieniem otyłości w procesach nowotworzenia.

Podsumowując „*Wstęp*” jest starannie przygotowaną częścią przeglądową dysertacji, świadcząca o szerokiej wiedzy i zrozumieniu trudnej tematyki. Jego układ jest logiczny i podporządkowany przedstawionym celom badań. Drobną uwagę wnoszę do użytego w tej części pracy określenia „*sterydy płciowe*” (str. 62), podczas gdy w nomenklaturze naukowej obowiązuje określenie „*steroidy płciowe*”.

„*Cel pracy*”

W kolejnym rozdziale Autorka krótko uzasadniła podjęcie tematyki badawczej, a następnie sformułowała 5 celi pracy. Zasadniczo, są one jasno sprecyzowane, chociaż uważam, że korzystniej dla tego rozdziału byłoby sformułowanie podstawowego celu badań i szczegółowych pytań badawczych lub/i hipotez badawczych.

„*Materiał i metody*”

Metodologia badań została opisana bardzo klarownie i rzetelnie. Badaniami objęto 86 pacjentów z nowotworami neuroendokrynnymi, którzy stanowili grupę badaną oraz 35 osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolną. Badani pacjenci, ze względu na lokalizację guza w trzustce (n=22), przewodzie pokarmowym (n=34), płucach (n=12) lub innej lokalizacji (n=18), zostali podzieleni na 4 grupy. Materiałem wykorzystanym do badań była krew żylna pobierana na czczo, jednorazowo z żyły odłokciowej (9 ml) w celu pozyskania osocza krwi, masy erytrocytarnej oraz surowicy. W uzyskanym materiale biologicznym oznaczano aktywność triady enzymów antyoksydacyjnych, stężenia hemoglobiny, dialdehydu malonowego, chromograniny A, melatoniny, omentyny-1, cytokin, chemokin oraz czynników

troficznych przy użyciu odpowiednio metody spektrofotometrycznej, immunoenzymatycznej lub wielofunkcyjnego systemu Bio-Plex.

Autorka wykorzystwała właściwe testy do statystycznego opracowania wyników badań.

„Wyniki”

Zakres i sposób przedstawienia wyników badań nie budzi zastrzeżeń. Opisano je dokładnie w tekście i zilustrowano w postaci tabel i rycin. W pierwszej kolejności Autorka przedstawiła dane dotyczące charakterystyki somatycznej grupy kontrolnej oraz pacjentów, podzielonych na podgrupy, w zależności od lokalizacji nowotworów. Następnie opisała zmiany w stężeniach dialdehydu malonowego będącego markerem stresu oksydacyjnego oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPx) i stężeniach melatoniny. Z analizy tych wskaźników wynika, że u pacjentów onkologicznych, w porównaniu z grupą kontrolną, nasilił się stres oksydacyjny z jednoczesnym obniżeniem aktywności SOD i stężenia melatoniny. W kolejnym podrozdziale przedstawiła wyniki wskaźników diabetologicznych, do których należały insulina, glukagon, grelina, glukozależny peptyd insulintropowy, C-peptyd, glukagonopodobny peptyd 1 oraz inhibitor aktywatora plazminogenu. W dalszej kolejności Autorka studiowała wyniki wybranych adipokin i chromograniny A. Spośród badanych adipokin tylko stężenia wisfatyny i omnetyny-1 wzrosły we wszystkich grupach pacjentów onkologicznych, w porównaniu z grupą kontrolną, podczas gdy stężenie rezystyny uległo znamiennej obniżeniu. W podrozdziale pt. *„Analiza parametrów stanu zapalnego u pacjentów z nowotworami neuroendokrynnymi oraz w grupie osób zdrowych”* przedstawiła istotne zmiany w poziomie licznych wskaźników wskazujących na stan zapalny u badanych pacjentów. W podrozdziale 6 Autorka zamieściła dane analizowane z wykorzystaniem jednoczynnikowej analizy wariancji, podczas gdy w podrozdziałach 7, 8 i 9 przedstawiała odpowiednio istotne zależności pomiędzy chromograniną A a badanymi wskaźnikami, analizę krzywych ROC w celu zidentyfikowania najbardziej czułych i swoistych markerów nowotworów neuroendokrynnych, które następnie zostały wykorzystane do analizy regresji logistycznej, aby określić prawdopodobieństwa wystąpienia choroby.

Do oryginalnych i ważnych osiągnięć w przebiegu nowotworów neuroendokrynnych należy niewątpliwie wykazanie:

- zaburzeń związanych z równowagą prooksydacyjno/antyoksydacyjnej, stanem zapalnym i sekrecją adipokin,
- niedoboru silnego antyoksydanta jakim jest melatonina,
- zaburzenia gospodarki węglowodanowej,

- wskaźników, które mogłyby usprawnić diagnostykę,
- opracowanie wzoru przydatnego w prognozowaniu prawdopodobieństwa wystąpienia lub wykluczenia nowotworów.

„Dyskusja”

Dyskusja wyników podsumowanych w rozprawie została przeprowadzona logicznie i świadczy o ugruntowanej wiedzy Autorki w dyscyplinie będącej przedmiotem recenzowanej pracy. Na wstępie Autorka wyjaśniła przyczyny utrudniające diagnostykę guzów neuroendokrynych oraz podkreśliła nowatorski charakter badań prezentowanych w pracy. W podrozdziale pt. *„Analiza procesu peroksydacji lipidów oraz enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej w nowotworach neuroendokrynych o różnej lokalizacji”* szczegółowo odniosła się do roli stresu oksydacyjnego, w tym toksycznego i mutagennego dialdehydu malonowego, w patogenezie guzów zlokalizowanych głównie w płucach, trzustce i jelicie. Następnie skonfrontowała wyniki swoich badań z wynikami innych autorów. W kolejnym podrozdziale Autorka szczegółowo odniosła się do wyników dotyczących stężenia melatoniny w nowotworach neuroendokrynych. Niski jej poziom może wskazywać na występowanie toczącego się procesu chorobowego. Podkreśliła znaczenie suplementacji melatoniną jednocześnie stosowanej z chemioterapią w raku m.in. płuc, jelita grubego czy wątroby. W podrozdziałach pt. *„Analiza wybranych parametrów diabetologicznych w nowotworach neuroendokrynych o różnej lokalizacji”* oraz *„Analiza BMI oraz stężenia wybranych adipokin w nowotworach neuroendokrynych o różnej lokalizacji”* dokonała przeglądu aktualnej literatury dotyczącej omawianego problemu, akcentując znaczenie zaburzeń metabolicznych w rozwoju chorób nowotworowych. W kolejnym podrozdziale Autorka przedyskutowała rolę układu immunologicznego w procesie nowotworzenia, ze wskazaniem czynników zaangażowanych w rozwój guzów neuroendokrynych. W dalszej kolejności przeprowadziła, w oparciu o wyniki swoich badań i badania wcześniej opublikowane, rozważania dotyczące wykorzystania chromograniny A jako markera neuroendokrynych chorób nowotworowych. Następnie odniosła się do krzywych ROC wykreślonych w celu ustalenia najwłaściwszych wskaźników spełniających kryteria w diagnostyce analizowanych nowotworów oraz sposobu wyznaczenia wzoru ich predykcji, zwracając przy tym uwagę na konieczność zweryfikowania jego dokładności poprzez wykonanie badań na większej populacji. W podsumowaniu kończącym dyskusję Autorka wskazała główne przyczyny nowotworzenia guzów oraz trudności wynikające z ich wykryciem.

Rozprawę doktorską kończy 10 poprawnie sformułowanych wniosków wynikających z badań przedstawionych w pracy. Rozważania Doktorantka oparła o bardzo obszerne piśmiennictwo naukowe, które zostało dobrane prawidłowo oraz uporządkowane według ogólnie przyjętych zasad.

Wniosek końcowy

Pani mgr Marlena Budek podjęła się realizacji ambitnego projektu badawczego ukierunkowanego na poszukiwanie nowych, potencjalnych markerów do diagnostyki nowotworów neuroendokrynych. Oprócz wartości naukowej i poznawczej, wyniki tych badań mają również znaczenie praktyczne, możliwe do wykorzystania przez lekarzy specjalistów. Stwierdzam zatem, że przedstawiona do recenzji praca doktorska pt. *„Ocena zależności między melatoniną, sekrecją wybranych adipokin, a wykładnikami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w przebiegu nowotworów neuroendokrynych. Nowe, potencjalne markery diagnostyczne.”* stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego oraz spełnia wymogi stawiane pracom promocyjnym na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy o dopuszczenie mgr Marleny Budek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, mając na uwadze wysoki poziom recenzowanej rozprawy doktorskiej wnioskuję o jej wyróżnienie.

Ewa Sadowska-Kryje