

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Czarniecka  
III Oddział Chirurgii Onkologicznej  
Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie  
Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach

Gliwice, 07.06.2023

**Recenzja rozprawy na stopień doktora  
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

**mgr. Jarosława Nuszkiewicz**

**pt.: „Ocena stężenia witaminy D, melatoniny, biomarkerów stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego i wykładników endokrynnej aktywności tkanki tłuszczowej u pacjentów z nowotworami głowy i szyi”**

Nowotwory regionu głowy i szyi (HNCs, ang. *head and neck cancers*) należą do nowotworów rzadkich, niemniej stanowiących istotny problem społeczny i kliniczny. Niejednokrotnie są olbrzymim wyzwaniem dla zespołu leczącego. Chorzy często wymagają rozległych zabiegów operacyjnych, połączonych z rekonstrukcją usuniętych tkanek i narządów oraz leczenia skojarzonego opartego o radio- czy radiochemioterapię. Dla części chorych, szczególnie we wczesnym stopniu zaawansowania procesu nowotworowego, wystarczającym leczeniem jest samodzielna radioterapia pozwalająca, jak np. w niskozaawansowanym raku krtani na wyleczenie choroby, z zachowaniem narządu i uniknięciem znacznego kalectwa związanego z operacją.

W przebiegu wielu nowotworów, w tym także HNCs, dochodzi do zaburzenia równowagi między wytwarzaniem reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*), a zdolnością organizmu do ich neutralizacji. W warunkach homeostazy organizm zachowuje równowagę między wytwarzaniem ROS, a ich neutralizacją za pomocą enzymatycznych i nieenzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych. Do nieenzymatycznych antyoksydantów zalicza się między innymi melatoninę czy wit. D. Aktualnie coraz więcej uwagi poświęca się także wpływowi otyłości na rozwój chorób nowotworowych. U osób otyłych dochodzi do zmiany profilu adipokin, na rzecz adipokin prozapalnych, które promują stres oksydacyjny i niekorzystnie wpływają na metabolizm węglowodanów. W tym kontekście tematyka podjętej rozprawy doktorskiej, mającej na celu ocenę stężenia melatoniny i witaminy D, a także aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych, stężenia markerów peroksydacji lipidów, wybranych adipokin, czynników regulujących homeostazę glukozy oraz wykładników stanu zapalnego u chorych na HNCs jest potrzebna, aktualna, nowatorska i poznawcza.

Na rozprawę doktorską składa się zbiór trzech tematycznie powiązanych prac, opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, opatrzonych wspólnym tytułem: „Ocena stężenia witaminy D, melatoniny, biomarkerów stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego i wykładników endokrynnej aktywności tkanki tłuszczowej u pacjentów z nowotworami głowy i szyi”

Są to:

Praca pogładowa:

Nuszkiewicz Jarosław, Woźniak Alina, Szewczyk–Golec Karolina

*Ionizing radiation as a source of oxidative stress: the protective role of melatonin and vitamin D*

International Journal of Molecular Sciences 2020: Vol. 21, nr 16, s. 5804, 1–22

Autor korespondencyjny: Jarosław Nuszkiewicz, Karolina Szewczyk–Golec

Impact Factor: 5,924 Punktacja MNiSW: 140

I dwie prace oryginalne:

Nuszkiewicz Jarosław, Czuczejko Jolanta, Maruszak Marta, Pawłowska Marta, Woźniak Alina, Małkowski Bogdan, Szewczyk–Golec Karolina

*Parameters of oxidative stress, vitamin D, osteopontin, and melatonin in patients with lip, oral cavity, and pharyngeal cancer*

Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2021: Vol. 2021, s. 1–13., 2364931

Autor korespondencyjny: Jarosław Nuszkiewicz

Impact Factor: 7,310 Punktacja MNiSW: 100

Nuszkiewicz Jarosław, Czuczejko Jolanta, Dróżdż Wiktor, Woźniak Alina, Małkowski Bogdan, Szewczyk-Golec Karolina

Tytuł: *Concentration of selected adipokines and factors regulating carbohydrate metabolism in patients with head and neck cancer in respect to their body mass index*

International Journal of Molecular Sciences 2023: Vol. 24, nr 4, s. 1–16, 3283.

Autor korespondencyjny: Jarosław Nuszkiewicz, Karolina Szewczyk-Golec

Impact Factor: 6,208 Punkcja MNiSW: 140

Wszystkie one zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych, o wysokim współczynniku oddziaływania (Impact Factor - IF) i wysokiej punktacji ministerialnej.

Na wykorzystanie wszystkich publikacji w przewodzie doktorskim mgr Jarosław Nuszkiewicz uzyskał zgodę pozostałych Współautorów, a indywidualny wiodący udział w prowadzonych badaniach naukowych został szczegółowo określony w każdej z publikacji. We wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym i korespondencyjnym Autorem. Powyższe fakty w pełni upoważniają do potraktowania tego zbioru publikacji, jako indywidualnego osiągnięcia naukowego Kandydata.

Ponadto na prowadzenie badań Doktorant uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy (zgoda numer KB 221/2018) oraz częściowe finansowanie w oparciu o następujące granty:

1. Projekt Badawczy Służący Rozwojowi Zespołów Badawczych w Ramach Działalności Naukowej Wydziału Lekarskiego CM UMK w roku 2021 (nr grantu: ZES.WL.10.2021). Temat : „*Rola wybranych cytokin, adipokin i markerów stanu zapalnego w przebiegu nowotworów jamy ustnej i jamy nosowo-gardłowej*”.
2. Grant Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza „Grants4NCUStudent” (nr decyzji: IDUB limit 1702-GRANTS\_4NCU\_STUDENTS\_IDUB 2020-1-NZ-NUSZKIEWICZ). Temat: „*Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 6 (IL-6) concentrations in patients with central nervous system and posterior nasopharyngeal cancer treated with radiation therapy*”.
3. Grant dla Młodych Naukowców i Uczestników Studiów Doktoranckich 2019 (nr decyzji: MN-SDL-7/WL/2019). Temat: „*Wpływ radioterapii nowotworów tylnej ściany jamy nosowo-gardłowej oraz OUN na stężenie melatoniny, witaminy D, osteopontyny oraz funkcjonowanie układu antyoksydacyjnego*”.

Wszyscy chorzy wyrazili świadomą zgodę na udział w projekcie.

Do recenzji otrzymałam liczące 144 strony opracowanie, o układzie typowym dla rozprawy doktorskiej, zawierające: wykaz stosowanych skrótów, wykaz publikacji tworzących dysertację, wstęp, cele pracy, omówienie zbioru publikacji, dyskusję, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim, spis rycin, spis tabel, bibliografię oraz załączniki (kopie publikacji stanowiących rozprawę doktorską, oświadczenia współautorów, zgodę Komisji Bioetycznej, wzór kwestionariusza dla pacjenta).

Włączone do zbioru prace zostały już wcześniej poddane szczegółowej ocenie przez niezależnych recenzentów, co wynika z wymogów stawianych czasopismom recenzowanym, dlatego też aspekty związane z metodyką badań, poprawnością użytych metod statystycznych, prezentacją wyników, ich dyskusją czy doborem piśmiennictwa należy uznać za poprawne i dostatecznie zweryfikowane przez ekspertów, dlatego też pozwolę sobie przedstawić i omówić jedynie, w mojej opinii, najważniejsze aspekty ocenianej dysertacji oraz przedstawić swoje uwagi, pytania i wątpliwości.

Za cel swoich badań Doktorant przyjął:

1. Analizę ochronnego działania melatoniny i witaminy D przed uszkodzeniami oksydacyjnymi wywołanymi promieniowaniem jonizującym, mającym zastosowanie w diagnostyce i leczeniu nowotworów – na podstawie dostępnej literatury.
2. Ocenę stężenia melatoniny i witaminy D, a także aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych, stężenia markerów peroksydacji lipidów, wybranych adipokin, czynników regulujących homeostazę glukozy oraz wykładników stanu zapalnego u chorych na nowotwory regionu głowy i szyi.
3. Analizę możliwych zależności między badanymi parametrami, a wybranymi czynnikami antropometrycznymi u chorych na nowotwory głowy i szyi.

W przedstawionym opracowaniu, po ciekawym wstępie, będącym, dobrym wprowadzeniem do własnych analiz, Doktorant omówił publikacje włączone do rozprawy doktorskiej i podsumował uzyskane wyniki.

Pierwsza z nich, będąca pracą poglądową, ciekawie opisuje rolę melatoniny i wit. D, jako antyoksydantów redukujących negatywne skutki ekspozycji na promieniowanie jonizujące, a także ich potencjalną rolę, jako radiouczulaczy w procesie leczenia promieniami jonizującymi. Jest to ważna podbudowa teoretyczna, uzasadniająca potrzebę analizy stężeń tych antyoksydantów w badaniach własnych.

W etapie pierwszym (publikacja druga) Doktorant przeanalizował grupę 45 chorych na HNCs, którą porównał z grupą kontrolną 25 zdrowych osób (CG, ang. *control group*)

Chorzy na HNCs zostali podzieleni na dwie grupy wiekowe: grupę młodszą (YCG, ang. *younger cancer group*;  $n = 25$ ;  $58,24 \pm 1,29$  lat) i starszą (OCG, ang. *older cancer group*;  $n = 20$ ;  $69,7 \pm 1,49$  lat). Po przeprowadzeniu badań i analizie uzyskanych wyników Doktorant zauważył, że aktywność Zn/Cu dysmutazy ponadtlenkowej (SOD-1) była zbliżona we wszystkich analizowanych grupach. Natomiast aktywność katalazy (CAT) była statystycznie niższa u chorych na HNCs w porównaniu z CG. Aktywność peroksydazy glutationowej (GPx) była istotnie wyższa w grupie YCG w porównaniu do CG. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami w stężeniu malonylodialdehydu (MDA) w erytrocytach, natomiast stężenie MDA w osoczu było znamienne wyższe u chorych na nowotwór niż w CG. W grupie OCG stężenie melatoniny było istotnie niższe niż w CG. Stężenie 25(OH)-witaminy D w surowicy osób zdrowych było wyższe niż u chorych na HNCs natomiast zaobserwowano u nich niższe stężenie osteopontyny.

Następnie (publikacja trzecia) Doktorant badał grupę 46 chorych na HNCs oraz 23 osoby (CG). Chorzy na HNCs zostali podzieleni, na podstawie współczynnika masy ciała BMI, na dwie grupy liczące po 23 osoby: grupę o prawidłowym BMI (nBMI) i grupę o podwyższonym BMI (iBMI). U chorych z grupy nBMI Doktorant stwierdził znamienne wyższe stężenie adiponektyny, omentyny-1 oraz greliny w surowicy w porównaniu z iBMI. W grupie iBMI zaobserwował istotnie wyższe stężenia insuliny, leptyny, peptydu C, GLP-1, PAI-1, rezystyny i wisfatyny niż w nBMI. Nie odnotował istotnych statystycznie różnic między grupami nBMI i iBMI w odniesieniu do adipsyny, GIP i glukagonu. W nBMI stwierdził znacząco wyższe wartości stężenia adipsyny, wisfatyny, glukagonu i PAI-1, a także istotnie niższe stężenie greliny w porównaniu z CG. Przeprowadzona analiza nie

wykazała różnic w stężeniu omentyny-1, GIP, adiponektyny, peptydu C, GLP-1, insuliny, leptyny i rezystyny między grupami nBMI i CG.

Na podstawie powyższych wyników Autor sformułował następujące wnioski (bezpośrednio zacytowane z opracowania):

1. Analiza aktualnej literatury naukowej wskazuje, że zarówno melatonina, jak i witamina D mają potencjał, jako substancje chroniące przed uszkodzeniami wywołanymi promieniowaniem jonizującym. Melatonina wykazuje silne właściwości przeciwutleniające i potencjalnie może być stosowana, jako czynnik radioprotekcyjny u ludzi. Rola witaminy D, jako substancji chroniącej przed negatywnymi skutkami ekspozycji na promieniowanie jonizujące wymaga dalszych badań. Można przypuszczać, że działanie witaminy D w tym aspekcie jest związane z redukcją stresu oksydacyjnego.
2. Z analizy aktualnej literatury naukowej wynika, że zarówno melatonina, jak i witamina D wykazują selektywne działanie radiosensybilizujące na komórki rakowe, co czyni je obiecującymi adiuwantami w radioterapii.
3. Istotnie niższe stężenie melatoniny zaobserwowano jedynie w grupie starszych pacjentów z HNC, co może wynikać z jej obniżonej produkcji wraz z wiekiem. Można sugerować, że niedobór melatoniny nie jest zaangażowany w patogenezę HNCs. Niewątpliwie określenie roli melatoniny w HNC wymaga dalszych badań.
4. Stwierdzone niskie stężenie witaminy D u pacjentów z nowotworami głowy i szyi wskazuje na możliwą rolę niedoborów witaminy D w rozwoju HNCs.
5. Wykazano zaburzenie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej oraz nasilenie peroksydacji lipidów w kancerogenezie HNC. Osłabienie enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej było bardziej zaznaczone w grupie starszych pacjentów z HNC. Różnice między młodszą i starszą grupą pacjentów z HNCs wskazują na konieczność uwzględnienia wieku pacjentów w strategiach leczenia.
6. Wysokie stężenie osteopontyny u pacjentów z HNC może być związane z kancerogenezą i wpływać na rozwój choroby. Wykazana dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem osteopontyny, a ilością MDA w osoczu może wskazywać na związek osteopontyny z nasileniem stresu oksydacyjnego.
7. U pacjentów z HNC występują zaburzenia równowagi hormonalnej tkanki tłuszczowej, co wpływa na zmianę metabolizmu węglowodanów i profilu markerów stanu zapalnego.

8. Grelina, wisfatyna i PAI-1 wydają się być szczególnie zaangażowane w patomechanizmy rozwoju i/lub progresji HNC. Niezbędne jest przeprowadzenie dalszych badań klinicznych na większej grupie pacjentów z HNC, aby przeanalizować udział tych parametrów w chorobie nowotworowej i ich potencjalne zastosowanie jako biomarkerów HNC.
9. Zaobserwowane wyższe stężenie adipsyny i glukagonu u pacjentów z HNC niezależnie od ich BMI w porównaniu z grupą kontrolną wskazuje na potencjalne znaczenie tych parametrów w rozwoju i/lub progresji nowotworów głowy i szyi.
10. Otyłość, która nie jest typowym czynnikiem ryzyka predysponującym do wystąpienia HNC, może wpływać negatywnie na zmiany metaboliczne u pacjentów z tym rodzajem nowotworu.

Przedstawione do oceny opracowanie jest przygotowane starannie. Osobiście zabrakło mi całościowego przedyskutowania i podsumowania uzyskanych wyników, a nie jedynie opisywania każdej z prac oddzielnie, bowiem wtedy zostałyby podkreślone, że prace stanowią zbiór publikacji tematycznie powiązanych, a tak stwarzają wrażenie elementów odrębnych i mnie osobiście pogarszają odbiór tej ciekawej dysertacji.

Analiza materiału – grup chorych na HNCs z obu publikacji, nasuwa mnie, jako klinicyście, wątpliwość i pytanie: o ile w pierwszej publikacji podane jest, że analizowane były raki płaskonabłonkowe w stopniu zaawansowania „in situ”, to brak jest takiej informacji w publikacji drugiej. Czy w niej także oceniano tylko chorych na nowotwory we wczesnym, przedinwazyjnym stopniu zaawansowania? Wydaje się, że zaawansowanie procesu nowotworowego może mieć istotny wpływ i znaczenie dla uzyskanych wyników, dlatego też, w mojej opinii, ta informacja wymagałaby uściślenia.

Autor słusznie zauważa, że ograniczeniem, Jego badań jest niewielka liczebność ocenianej populacji, dlatego też wszystkie obserwacje i wyniki traktować należy jedynie jako wstępne. Powinno się natomiast docenić, że są to pierwsze badania analizujące mechanizmy obrony antyoksydacyjnej, rolę melatoniny, witaminy D czy osteopontyny w europejskiej populacji chorych na raka wargi, jamy ustnej i gardła oraz badające bardzo szeroko, parametry związane z endokrynną funkcją tkanki tłuszczowej, homeostazą metabolizmu węglowodanów i stanem zapalnym u chorych na HNCs. Bardzo dobrym podsumowaniem są ryciny 5 i 6 przedstawiające postulowane mechanizmy łączące melatoninę, wit. D, stres oksydacyjny enzymy antyoksydacyjne i osteopontynę oraz możliwe interakcje pomiędzy zaburzoną funkcją tkanki

tłuszczowej w otyłości u chorych na HNCs. W tym miejscu także zabrakło mi w opracowaniu szerszego komentarza Doktoranta. Przedstawione wnioski to, w mojej opinii także raczej podsumowanie wyników i chyba tak należało, by ten akapit zatytułować. Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na użycie w rozprawie tzw. „kalek językowych”, drobne błędy stylistyczne, interpunkcyjne czy edytorskie. Już w tytule dysertacji Doktorant używa sformułowania : „u pacjentów z nowotworami głowy i szyi”, zamiast „u chorych na nowotwory regionu głowy i szyi”. Jest to częsta kalka językowa z języka angielskiego („ang.: patient with...”). Dla usprawiedliwienia Kandydata należy zauważyć, że są to częste błędy pojawiające się w licznych artykułach i opracowaniach naukowych, wynikające z bezpośredniego tłumaczenia z języka angielskiego, który obecnie stał się podstawowym językiem publikacji naukowych. Podobnie, w kilku miejscach użyte zostało nieprawidłowo słowo „poziom”, w sytuacji, gdy w języku polskim powinno się użyć słowa „stężenie”. Niestety termin „poziom” zamiennie do „stężenie” także bardzo często pojawia się w naukowych tekstach medycznych, co wynika z przetłumaczenia słowa „level”, które w języku angielskim, w odróżnieniu od języka polskiego, odnosi się także do zawartości danego składnika w jednostce masy czy objętości. W tym miejscu chciałam podkreślić, że w większości przypadków Doktorant używa tych terminów poprawnie. Natomiast lepiej byłoby zastosować sformułowanie: „komórki raka”, a nie „komórki rakowe”. W opracowanie wkraść się także brak kilku spacji, przecinków czy inne drobne błędy interpunkcyjne. Wszystkie one są nieuniknione w takich opracowaniach i oczywiście nie wpływają na jego wartość merytoryczną.

### **Podsumowanie:**

Podsumowując, pracę oceniam bardzo pozytywnie, a moje krytyczne uwagi nie umniejszają wartości rozprawy, podejmującej ważną i aktualną tematykę badawczą. Są to wartościowe, interesujące badania wstępne, przeprowadzone u europejskich chorych na HNCs. Mogą one stanowić punkt wyjścia, do dalszych szczegółowych analiz, na większych populacjach, dla uzyskania bardziej użytecznych wniosków. Warto zaznaczyć, także, że publikacje tworzące dysertację, już zaczynają być cytowane, pomimo faktu, iż powstały niedawno, co na pewno świadczy o wadze poruszanych w nich zagadnień. Autor przeprowadził ciekawe, kompleksowe analizy, na wykonanie których pozyskał środki finansowe z grantów naukowych.



W publikacjach Doktorant wykazał się szeroką znajomością zagadnienia i umiejętnością krytycznej analizy uzyskanych wyników. Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa spełnia wymogi ustawowe stawiane pracom doktorskim i warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668 ze zm.) i dlatego mam zaszczyt wnioskować do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy o dopuszczenie mgr. Jarosława Nuszkiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

7.06.2023

7350477 Prof. dr hab. n. med.  
Agnieszka Czarniecka  
specjalista chirurgii  
ogólnej, onkologicznej  
endokrynolog

