Poznań, 6 sierpnia 2021 roku

Dr hab. n. med. Ewa Wysocka
Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Wydział Medyczny
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Recenzja rozprawy doktorskiej
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne
przygotowanej przez
mgr Sarę Julitę Pączek

pt. Chemokina CXCL8 i jej specyficzny receptor CXCR2 jako markery raka jelita grubego

Promotor: dr hab. n. med. Marta Łukaszewicz-Zając
Zakład Diagnostyki Biochemicznej
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Zgodnie z Uchwałą Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 24.06.2021 r. zacytowaną w piśmie Dziekana Kolegium Nauk Farmaceutycznych UMB z dnia 29.06.2021 r., przedstawiono do oceny rozprawę doktorską mgr Sary Julity Pączek, której podstawę stanowią trzy publikacje - w każdej Doktorantka jest pierwszym Autorem:

1. Praca przeglądowa: Pączek S, Łukaszewicz-Zając M, Mroczko B. *Chemokines – What Is Their Role in Colorectal Cancer?* Cancer Control. 2020; 27(1): 1073274820903384.
IF 3,103 i MNiSW 100.000.

2. Praca oryginalna: Pączek S, Łukaszewicz-Zając M, Gryko M, Mroczko P, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B. *CXCL-8 in Preoperative Colorectal Cancer Patients: Significance for Diagnosis and Cancer Progression*. International Journal of Molecular Sciences. 2020: 21(6): 2040.
IF 4.556 i MNiSW 140.000.

3. Praca oryginalna: Pączek S, Łukaszewicz-Zając M, Gryko M, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B. *The Clinical Utility of Serum CXCR-2 Assessment in Colorectal Cancer (CRC) Patients.* Anticancer Research. 2021: 41(3):1421-1428.
IF 1.994 i MNiSW 70.000.

Pozostały dorobek publikacyjny Doktorantki, nie włączony do rozprawy doktorskiej, obejmuje 4 prace o sumarycznym współczynniku oddziaływania IF=8.337 i punktacji MNiSW=380.000 oraz 2 zagraniczne i 2 polskie streszczenia zjazdowe.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska liczy w sumie 74 strony i składa się z kilkunastu części: Spis treści, Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej wraz z wykazem bibliometrycznym Doktorantki (stan na 24.05.2021), Wykaz skrótów, Wstęp, Cel pracy, Realizacja celów naukowych (w tym: Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja), Wnioski, Piśmiennictwo,

ewp

Streszczenie (w języku polskim i angielskim), Publikacje stanowiące rozprawę doktorską (trzy artykuły), Zgoda Komisji Bioetycznej, Oświadczenia autora rozprawy doktorskiej, Oświadczenia współautorów rozprawy doktorskiej, Dorobek naukowy.

Autorka określiła swój udział w przygotowanie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. W każdej z trzech publikacji Jej udział polegał na zebraniu i przeglądzie literatury, opracowaniu koncepcji pracy i przygotowaniu manuskryptu. Dodatkowo, w pracach oryginalnych obejmował: zabezpieczenie i przygotowanie próbek krwi do analizy, udział w oznaczeniach wybranych parametrów, interpretację wyników, opracowanie wniosków. Doktorantka wniosła 60-procentowy wkład w powstanie każdej z trzech publikacji. Każdy Współautor trzech przedmiotowych prac określił swój udział w przygotowaniu publikacji i wyraził zgodę na jej przedłożenie jako część rozprawy doktorskiej mgr Sary Julity Pączek w formie spójnego tematycznie cyklu prac.

Rozprawa doktorska dotyczy znaczenia klinicznego chemokiny CXCL8 (interleukina 8) i jej specyficznego receptora CXCR2 u pacjentów z rakiem jelita grubego. Sprawna diagnostyka raka jelita grubego pozostaje troską współczesnej medycyny, w tym diagnostyki laboratoryjnej w postępowaniu nieinwazyjnym. Dostępne dane z Krajowego Rejestru Nowotworów w Polsce wskazują na trzecie miejsce w strukturze zgonów dla nowotworów złośliwych jelita grubego, zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Systematycznie, od 1980 roku, ulega zwiększeniu tzw. surowy współczynnik zachorowalności. Starzenie się populacji jako ogólny czynnik ryzyka wystąpienia nowotworu, utrzymujące się środowiskowe czynniki ryzyka oraz wzrost zapadalności i śmiertelności w młodszej populacji (tj. 3. i 4. dekadzie życia), utrzymują nowotwory jelita grubego jako istotne wyzwanie opieki zdrowotnej.

We wstępie Kandydatka przedstawiła aktualny stan wiedzy na temat chemokin i receptorów chemokinowych, z uwzględnieniem ich funkcji i znaczenia w procesie nowotworzenia – zwłaszcza chemokiny CXCL8 i receptora CXCR2. Przedstawiła zagadnienie raka jelita grubego jako problem kliniczny oraz rolę markerów nowotworowych, komórkowych i krążących, w procesie diagnostycznym.

Szczegółowe przedstawienie części tych zagadnień znajduje się w pracy poglądowej pt. *Chemokines – What Is Their Role in Colorectal Cancer?*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej. Na uwagę zasługuje przedstawienie roli chemokin na różnych etapach choroby nowotworowej oraz szczegółowe omówienie wyników dotychczasowych badań nad udziałem chemokin i ich receptorów w rozwoju raka jelita grubego, w tym nielicznych prac dotyczących CXCL8 i CXCR2. Zaangażowanie chemokin w ramach osi CXCL8-CXCR1/2 zostało potwierdzone m.in. w raku płuca, piersi, jajnika, gruczołu krokowego oraz trzustki. Doktorantka zna aktualne standardy postępowania klinicznego, w tym interpretacji stężeń krążących markerów nowotworowych we krwi w monitorowaniu i prognozowaniu przebiegu choroby. Rozumie wyzwania współczesnej diagnostyki laboratoryjnej w poszukiwaniu markerów wczesnego rozpoznania nowotworu. Z uwagi na sugerowany w piśmiennictwie udział CXCL8 i CXCR2 w rozwoju raka jelita grubego, m.in. wykazanie w badaniach

Ełup

immunohistochemicznych wzmożonej ekspresji CXCL8 w komórkach tego nowotworu, korelującej dodatnio z wielkością guza i stadium zaawansowania klinicznego, ocena znaczenia diagnostycznego tych parametrów jest bardzo potrzebna. Kandydatka w pełni uzasadniła podjęte przez siebie działania badawcze oraz przedstawiła założenia i cele pracy:

Cel 1 obejmował oznaczenie stężeń chemokiny CXCL8 i jej specyficznego receptora CXCR2 w surowicy chorych na raka jelita grubego oraz porównanie stężeń tych chemokin między chorymi i osobami zdrowymi. Celem 2 była ocena zależności pomiędzy stężeniami CXCL8 i CXCR2 a stadium zaawansowania nowotworu, z uwzględnieniem cech kliniczno-patologicznych choroby. Cel 3 dotyczył porównania stężeń badanych białek w odniesieniu do klasycznego markera nowotworowego stosowanego w monitorowaniu raka jelita grubego (CEA) i markera stanu zapalnego (CRP). Celem 4 było określenie czułości i swoistości diagnostycznej, wartości predykcyjnej wyniku ujemnego i dodatniego, dokładności diagnostycznej oraz mocy diagnostycznej, dla badanych białek CXCL8 i CXCR2. Realizację celów naukowych stanowią publikacje oryginalne wchodzące w skład rozprawy doktorskiej: Publikacja 2 - *CXCL-8 in Preoperative Colorectal Cancer Patients: Significance for Diagnosis and Cancer Progression* oraz Publikacja 3 - *The Clinical Utility of Serum CXCR-2 Assessment in Colorectal Cancer (CRC) Patients.*

Badania laboratoryjne przeprowadzono w surowicy chorych na raka jelita grubego (59 pacjentów) w różnym stopniu zaawansowania nowotworu i u osób zdrowych (46 osób); szczegóły zawarto w Publikacji 2 i Publikacji 3. Przedstawione w publikacjach: materiał i metody, w tym metody analityczne i statystyczne, są właściwe.

Wyniki badań mgr Sary J. Pączek przedstawiają znaczenie chemokiny CXCL8 i jej receptora CXCR2 w rozwoju raka jelita grubego, zwłaszcza w odniesieniu do wyników pomiaru stężeń tradycyjnych markerów: nowotworowego CEA i zapalnego CRP. Niedosyt recenzenta w tej części pracy (zarówno w Publikacji 2 jak i Publikacji 3) dotyczy współczynników zmienności, wewnątrzseryjnej i międzyseryjnej, jako atrybutów metody analitycznej oceniającej stężenie CXCL8 i CXCR2, charakteryzujących wartość uzyskanych wyników i potencjalnie umacniających kliniczne znaczenie tych chemokin. Opublikowane wyniki zostały przejrzyście opracowane, szczegółowo omówione i przedyskutowane w pracach oryginalnych oraz syntetycznie przedstawione w rozprawie doktorskiej. Chorzy z rakiem jelita grubego cechowali się wyższymi stężeniami CXCL8 i niższymi stężeniami CXCR2 w porównaniu z osobami zdrowymi oraz zróżnicowanymi wartościami CXCL8 w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego. Doktorantka zaobserwowała zwiększone stężenia CXCL8 zależne od obecności przerzutów odległych oraz korelujące z tradycyjnymi markerami CEA i CRP. Wyniki oceny zależności między badanymi białkami a ryzykiem wystąpienia raka jelita grubego podtrzymują najistotniejsze znaczenie CRP i CEA. Analiza czułości i swoistości diagnostycznych ocenianych białek (CXCL8, CXCR2, CEA, CRP), pojedynczo i w różnych zestawieniach, wykazała najwyższą czułość diagnostyczną 98% przy łącznym zastosowaniu CXCL8 i CRP.

Kandydatka w pełni zrealizowała cele pracy i przedyskutowała jej wyniki. Doktorantka dokonała wnikliwego podsumowania wyników, pochodzących z obu prac oryginalnych. Cztery wnioski rozprawy doktorskiej zostały poprawnie sformułowane i odpowiadają postawionym celom. Wnioski nr 1 i nr 2 zawierają istotne przesłanie kliniczne, zachęcające do dalszych badań nad biochemicznym scenariuszem rozwoju raka jelita grubego z udziałem chemokin, zwłaszcza CXCL8. Wnioski nr 3 i nr 4 wskazują na znaczenie analizy wieloparametrowej w klinicznej ocenie chorych na raka jelita grubego i mogą promować chemokinę CXCL8 jako składową zestawu markerów nowotworowych. Dalszego wyjaśnienia może wymagać kwestia: z jakimi parametrami zestawić CXCL8 w monitorowaniu pacjentów dla przewidywania stopnia zaawansowania procesu chorobowego. Dokonania Kandydatki są ważne w kontekście personalizacji leczenia raka jelita grubego i powinny być zachętą do kontynuowania badań w obszarze kliniczno-laboratoryjnym. Nie byłoby nowoczesnej immunoterapii nowotworów bez naukowych podstaw i ciągłego uzupełniania dotychczasowej wiedzy biochemicznej i następnie molekularnej. Dodatkowo, istnieje szansa wzbogacenia postępowania klinicznego u pacjentów z rakiem jelita grubego o nowe krążące markery nowotworowe.

Pani mgr Sara J. Pączek przygotowała rozprawę doktorską starannie, z dbałością o poprawność języka polskiego.

Podsumowując, przedłożona do recenzji rozprawa doktorska na podstawie trzech publikacji: poglądowej i dwóch - oryginalnych, wzbogaca temat poszukiwań biomarkerów w onkologii. Autorka wykazała się aktualną wiedzą dotyczącą chemokin i ich udziału w rozwoju choroby nowotworowej, szczególnie – raka jelita grubego. Kandydatka umiejętnie posłużyła się metodami analitycznymi oraz dokonała rzetelnej analizy statystycznej i interpretacji jej wyników. Doktorantka zrealizowała założone cele. Wyniki rozprawy doktorskiej mgr Sary Julity Pączek są bardzo ważnym głosem w dyskusji kliniczno-laboratoryjnej, wskazującym miejsce krążących markerów nowotworowych, w tym CXCL8 i CXCR2, w badaniach naukowych i praktyce klinicznej. Stanowią zachętę do ustalenia klinicznej użyteczności chemokin. Nowością pracy jest przeprowadzenie oceny znaczenia diagnostycznego i prognostycznego stężenia chemokiny CXCL8 i jej receptora CXCR2 we krwi chorych na raka jelita grubego w odniesieniu do markerów o określonym znaczeniu klinicznym - CEA i CRP. Sformułowane przez Kandydatkę wnioski stanowią ważne przesłanie kliniczno-laboratoryjne dla diagnostyki i leczenia onkologicznego.

Biorąc pod uwagę całość rozprawy doktorskiej mgr Sary J.Pączek, stwierdzam, że Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. *Ustawa o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Wnoszę do Wysokiej Rady Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, o dopuszczenie mgr Sary Julity Pączek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej
Ewa Wysocka
dr hab. n. med. Ewa Wysocka