

Ocena cyklu prac będącego osiągnięciem naukowym

i całości dorobku naukowego

dr n. med. Grażyny Ewy Będkowskiej

z Zakładu Diagnostyki Hematologicznej UM w Białymstoku

I Przebieg pracy zawodowej

Grażyna Ewa Będkowska ukończyła Akademię Medyczną w Białymstoku na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej w 2002 roku. Dyplom magistra kierunku analityka lekarska uzyskała na podstawie pracy „Ocena zakresu niestabilności chromosomu pierścieniowego 18”. W latach 2005 – 2010 studiowała w Studium Doktoranckim w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Akademii Medycznej w Białymstoku. Jednocześnie pracowała jako wolontariuszka w tym zakładzie realizując program specjalizacji z zakresu laboratoryjnej diagnostyki medycznej. Studia doktoranckie ukończyła i obroniła w 2010 roku na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej pracę doktorską pt. „Cytokiny hematopoetyczne jako markery raka macicy”. W 2012 roku uzyskała dyplom specjalisty z laboratoryjnej diagnostyki medycznej.

Mgr Grażyna Ewa Będkowska pracowała od 10 2010 roku jako młodsza asystentka w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku a od 1 03 2012 w Zakładzie Diagnostyki Hematologicznej UM w Białymstoku tego szpitala. Od 1 01 2013 do chwili obecnej pracuje w wymienionym wyżej zakładzie na etacie starszego asystenta.

II Działalność naukowa

Działalność naukowa Grażyny Ewy Będkowskiej jest wyraźnie ukierunkowana i koncentruje się na wykładnikach laboratoryjnych rozpoznawania chorób nowotworowych narządów rozrodczych kobiety. Jej prace dotyczą zakresu diagnostyki biochemicznej. W początkowym okresie skupiły się na markerach laboratoryjnych raka trzonu macicy, a w ostatnich latach raka piersi i raka jajnika. Cykl publikacji wskazanych jako osiągnięcie naukowe w przewodzie habilitacyjnym dotyczy właśnie tego zagadnienia.

A. Cykl publikacji dotyczących wybranych biomarkerów reakcji zapalnej i angiogenezy w diagnostyce nowotworów piersi i jajnika.

Choroby nowotworowe są jednym z największych wyzwań współczesnej medycyny. Wśród kobiet dwie najważniejsze jednostki chorobowe to rak piersi i rak jajnika. Pierwszy ze względu na częstotliwość występowania, drugi ze względu na późne rozpoznanie a co za tym idzie wysoką śmiertelność mimo zastosowania najnowocześniejszych, często bardzo agresywnych i kosztownych metod terapii. O ile w przypadkach nowotworów uwarunkowanych genetycznie (mutacja BRCA 1, BRCA2, zespół Lyncha) poprzez częste badania kobiet z tej grupy ryzyka i wykonywanie operacji profilaktycznych uzyskano znaczący spadek śmiertelności na te nowotwory, o tyle u pozostałych chorych śmiertelność, szczególnie w Polsce, jest nieakceptowalnie wysoka.

W obu nowotworach kluczem do poprawy efektywności leczenia jest wczesne rozpoznanie. W przypadkach raka piersi poza badaniem fizykalnym i samokonrolą wykonuje się przesiewowe badania obrazowe – mammografię. Dzięki temu można wykonać punkcję cienkoigłową, gruboigłową lub mammotomiijną. Niestety najczęściej nowotwór ten rozpoznawany jest w stadium przerzutów do węzłów chłonnych, a często w takim stadium, że przed leczeniem operacyjnym konieczne jest leczenie chemioterapeutyczne w celu zmniejszenia rozmiarów guza. Jeszcze gorzej jest w przypadkach raka jajnika. Nowotwór ten bardzo późno daje objawy kliniczne w postaci wodobrzusza, badalnego guza w jamie brzusznej lub płynu w opłucnej czyli w III i IV stopniu zaawansowania klinicznego. W stadiach tych jest on praktycznie śmiertelny a długotrwała terapia umożliwi jedynie wydłużenie okresu przeżycia. Problemu nie rozwiązują systematyczne badania ultrasonograficzne, gdyż rak rozwija się wewnątrztrzewnowo i nie zawsze na podłożu torbieli. Poszukuje się więc metod laboratoryjnych podobnie, jak w przypadku raka prostaty u mężczyzn, wczesnego rozpoznania raka piersi i raka jajnika. Duże nadzieje pokładano w badaniu markerów nowotworowych w przypadkach raka piersi – Ca 15-3 i CEA a w przypadkach raka jajnika Ca 125 i HE4. Markery te jednak są mało czułe i mało specyficzne. Mogą być podwyższone w innych stanach chorobowych np. w bakteryjnym stanie zapalnym, w endometriozie, w reumatoidalnym zapaleniu stawów. Są więc praktycznie przydatne głównie w zaawansowanych stadiach rozwoju nowotworu celem monitorowania leczenia. Dlatego poszukiwanie innych markerów pomocnych szczególnie w rozpoznaniu wczesnych stadiów rozwoju obu typów raków uważam za bardzo celowe i jak najbardziej aktualne. Cykl przedstawionych do recenzji prac stanowi spójną całość i dotyczy tej problematyki.

W temacie diagnostyki raka piersi habilitantka wraz z zespołem zajęła się oznaczeniami stężeń wybranych hematopoetycznych czynników wzrostu (Hematopoietic growth factors – HGFs), tj. interleukiny-3 (IL-3), czynnika wzrostu komórek pnia (stem cell factor – SCF), czynnika stymulującego kolonie granulocyta-makrofagowe (granulocyte-macrophage – colony stimulating factor – GM-CSF), czynnika stymulującego kolonie granulocyta (granulocyte – colony stimulating factor – G-CSF) oraz czynnika stymulującego kolonie makrofagowe

(macrophage – colony stimulating factor – M-CSF) w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu. W pracy "Hematopoietic cytokines as tumor markers in breast malignancies. A multivariate analysis with ROC curve in breast cancer patients" podaje, że z badanych cytokin hematopoetycznych jedynie stężenia G-CSF oraz M-CSF były znacząco wyższe w osoczu chorych na raka piersi. Najwyższą wartością swoistości diagnostycznej, wartością predykcijną wyniku dodatniego i ujemnego oraz mocą diagnostyczną badań wśród wybranych HGFs wykazał się M-CSF i były to wartości równe lub wyższe od tych uzyskanych przez CA15-3. Ponadto, stężenia M-CSF wyraźnie naśladowały wahania tego rutynowo oznaczanego w diagnostyce raka piersi markera, co potwierdziły istotne statystyczne dodatnie korelacje. Na podstawie tych badań habilitantka sugeruje, że M-CSF może mieć potencjalne znaczenie jako marker laboratoryjny tego nowotworu, szczególnie przy łącznej analizie z CA15-3, gdyż w takiej analizie czułość diagnostyczna (SE) wzrosła nawet do 69% w mniej zaawansowanych stadiach raka (I-II) przy jednoczesnym zachowaniu wysokich wartości swoistości diagnostycznej (SP-90%) oraz wartości predykcyjnych wyniku dodatniego (PPV-86%) i ujemnego (NPV-77%).

W drugiej z pracy dotyczącej raka piersi „VEGF, M-CSF and CA 15-3 as a new tumor marker panel in breast malignancies: a multivariate analysis with ROC curve. Growth Factors” dr Grażyna Ewa Będkowska zajęła się poza M-CSF również oznaczaniem stężenia innej cytokiny, czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (vascular endothelial growth factor – VEGF). Stwierdziła, że stężenia M-CSF i VEGF podobnie jak antygenu Ca 15-3 były istotnie wyższe w grupie pacjentek z rakiem piersi i wzrastały wraz ze stopniem zaawansowania nowotworu. Ze wszystkich trzech badanych biomarkerów najwyższą czułość diagnostyczną miało oznaczenie stężeń M-CSF (53%). Była ona znacznie wyższa niż dla VEGF (44%) i CA15-3 (36%). Co ciekawe łączna analiza stężeń trzech poddawanych ocenie biomarkerów daje jeszcze wyższą czułość (stadia zaawansowania: I-48%; II-60%; III i IV-96%). Duże znaczenie ma wysoka czułość przy niskich stadiach zaawansowania I i II. Umożliwia to wyodrębnienie grupy kobiet, u których należy wdrożyć diagnostykę pogłębianą. Należałoby dążyć do wdrożenia nowego panelu diagnostycznego złożonego z oznaczeń M-CSF, VEGF i Ca15-3

Poza problematyką raka piersi cykl przedstawionych do oceny prac obejmuje diagnostykę raka jajnika. W pracy "The plasma concentration of VEGF, HE4 and CA125 as a new biomarkers panel in different stages and sub-types of epithelial ovarian tumors" habilitantka zajęła się przydatnością diagnostyczną pomiaru stężeń VEGF i M-CSF w osoczu krwi chorych z rakiem jajnika w porównaniu do klasycznych markerów raka jajnika tj. antygenu nowotworowego 125 (CA125) i antygenu HE4 (human epididymis protein 4). Stwierdziła, że stężenia VEGF oraz CA125 i HE4 korespondowały ze sobą i wzrastały wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania choroby nowotworowej. Swoistość diagnostyczna (SP), wartość predykcyjna wyniku dodatniego (PPV) i ujemnego (NPV) oznaczeń VEGF we wszystkich analizowanych podgrupach, była

równie wysoka co klasycznych markerów nowotworowych. Według recenzenta bardzo ważne jest to, że VEGF uzyskał wyższe lub równie wysokie wartości czułości diagnostycznej (SE) co CA125 i HE4 w mniej zaawansowanych stadiach raka (I-II), gdyż rozpoznanie raka jajnika w tych stadiach zaawansowania jest bardzo trudne, a niewątpliwie rzutuje na efekty leczenia. Należy zgodzić się z sugestią, że oznaczenie stężenia VEGF ma dużą przydatność diagnostyczną zwłaszcza we wczesnych stadiach choroby szczególnie w połączeniu z oznaczeniami stężeń klasycznych markerów jajnika.

W kolejnej pracy „M-CSF in a new biomarker panel with HE4 and CA 125 in the diagnostics of epithelial ovarian cancer patients.” Autorzy na czele z dr Będkowską zajęli się oceną porównawczą stężeń czynnika stymulującego kolonie makrofagowe (M-CSF) ze stężeniem rutynowych markerów laboratoryjnych raka jajnika. Stwierdzono, że czułość diagnostyczna (SE) oznaczeń M-CSF u kobiet w stadiach II-IV choroby w całej grupie badanej z rakiem jajnika (70%) oraz w raku surowiczym tego narządu (74%) była wyższa w porównaniu do klasycznych markerów nowotworowych. M-CSF uzyskał także równie wysoką wartość swoistości diagnostycznej (SP) co CA125 i HE4, oraz wyższe wskaźniki wartości predycyjne wyniku dodatniego (PPV) i ujemnego (NPV) w większości badanych podgrup chorych z rakiem jajnika. Jednak najwyższą czułość diagnostyczną uzyskano dla łącznej analizy stężeń M-CSF z CA125 i HE4, która była znacznie wyższa niż przy oznaczaniu klasycznych markerów nowotworowych. Uzyskane wyniki badań wskazują, iż łączne oznaczanie stężenia M-CSF z klasycznymi markerami laboratoryjnymi może zwiększyć skuteczność procesu diagnostycznego kobiet z rakiem jajnika, zwłaszcza na wczesnych etapach rozwoju raka oraz u kobiet z rakiem surowiczym.

Bardzo ważną grupą enzymów biorących udział w procesie karcinogenezy są metaloproteazy. Biorą one udział w degradacji kolagenu typu IV, który buduje między innymi błonę podstawną przez to bierze udział w zniszczeniu bariery uniemożliwiającej komórkom migrację. Jedną z tych metaloproteaz jest matrylizyna – MMP - 7 . Drugą grupę enzymów stanowią tkankowe inhibitory wspomnianych metaloproteaz, a wśród nich TIMP – 1. Habilitantka stężenia tych te właśnie markerów u chorych z rakiem jajnika postanowiła zbadać. Wyniki opublikowała w pracy „Plasma levels of MMP-7 and TIMP-1 in laboratory diagnostics and differentiation of selected histological types of epithelial ovarian cancers.” Okazało się, że bardziej przydatna do diagnostyki rak jajnika jest metaloproteaza 7. Bardzo obiecujące wyniki uzyskano przy łącznej analizie stężenia tej proteazy ze stężeniami Ca125 i HE4. Czułość diagnostyczną (SE) wynosiła aż 75% w I stopniu zaawansowania i 81% w II.

W ostatniej pracy przedstawionej do oceny „Diagnostic Power of Selected Cytokines, MMPs and TIMPs in Ovarian Cancer Patients - ROC Analysis.” Porównano stężenia: M-CSF, VEGF, MMP-2, MMP-7, MMP-9, TIMP-1 oraz TIMP-2 do stężeń CA125 i HE4. Analiza uzyskanych

wyników wykazała, że wśród wszystkich badanych biomarkerów M-CSF, VEGF i MMP-9 uzyskiwały najwyższe wskaźniki swoistości diagnostycznej. Ponadto moc diagnostyczna wzrastała najbardziej przy jednoczesnej analizie MMP-7, MMP-9 lub VEGF z CA125 i HE4.

Reasumując: przedstawiony do recenzji cykl publikacji ma duże znaczenie w diagnostyce raka piersi i raka jajnika. Uzyskane w niej wyniki jednoznacznie wskazują na wysoką przydatność wybranych biomarkerów reakcji zapalnej i angiogenezy w tej diagnostyce. Ma to szczególne znaczenie w rozpoznawaniu wczesnych postaci nowotworów co niewątpliwie wpływa na poprawę wyników leczenia szczególnie w raku jajnika.

Cykl publikacji składa się z 6 prac oryginalnych, wśród których habilitantka w 3 jest pierwszym autorem, a w 3 drugim. Potwierdzony udział habilitanta we wskazanym cyklu prac to 55-85%. Sumaryczny IF tych prac wynosi **12,816**. Całkowita punktacja MNiSW powyższych prac to **135** pkt.

Według recenzenta prace te spełniają wymogi osiągnięcia naukowego.

B. Pozostałe osiągnięcia naukowe

Chronologicznie, poza cyklem wybranym do osiągnięcia naukowego, habilitantka oceniała przydatność oznaczeń stężeń wybranych cytokin hematopoetycznych (HGFs) jako markerów nowotworowych raka trzonu macicy. Efektem tych badań były prace oryginalne, wykazujące istotne znaczenie M-CSF i SCF jako markerów tego nowotworu. Kontynuacją powyższych badań była ocena przydatności oznaczania stężeń wybranych cytokin hematopoetycznych u chorych na raka jajnika. Ocenie poddano stężenia czynnika stymulującego kolonie granulocytarne (G-CSF), czynnika stymulującego kolonie granulocytarno-makrofagowe (GM-CSF), czynnika stymulującego kolonie makrofagowe (M-CSF) oraz czynnika Steel (SCF). Wśród badanych cytokin najwyższe wartości wskaźników diagnostycznych uzyskano dla wyników M-CSF.

W kolejnym etapie badań oznaczano stężenia G-CSF, GM-CSF, M-CSF, SCF oraz VEGF, MMP-9 i TIMP-1 w osoczu chorych na raka szyjki macicy w grupie pacjentek z rakiem przedinwazyjnym (CIN III). Najwyższą czułość diagnostyczną (54%), wartość predykeyjną wyniku dodatniego (90%) i ujemnego (65%) oraz moc diagnostyczną (0.729) u tych chorych stwierdzono dla stężeń M-CSF. Równie przydatny we wczesnej diagnostyce raka szyjki macicy okazał się VEGF.

Istotnym punktem działalności naukowej był cykl prac poświęconych ocenie stężeń: M-CSF, G-CSF, GM-CSF, VEGF, MMP-2, MMP-9, TIMP-1 oraz TIMP-2 u pacjentek z rakiem piersi. Rezultaty badań wskazują na potencjalną przydatność oznaczeń stężeń wybranych cytokin oraz

tkankowego inhibitora metaloproteinaz-2 jako kandydatów na markery nowotworowe raka piersi w zakresie zarówno oceny progresji choroby jak i diagnostyki chorych z tymi nowotworami.

Kolejnym polem działań naukowych była ocena przydatności oznaczania: MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-12 oraz tkankowych inhibitorów metaloproteinaz: TIMP-2 i TIMP-3 u pacjentów z łagodną i umiarkowaną łuszczycą. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość zastosowania oznaczania stężenia wymienionych metaloproteinaz i TIMP-3 (za wyjątkiem MMP-12 i TIMP-2) w diagnostyce chorych na łuszczycę.

Inne osiągnięcia naukowe to prace pogładowe, w których habilitantka na podstawie danych literaturowych przeanalizowała i opisała znaczenie wybranych białek specyficznych jako biomarkerów raka szyjki i raka endometrium

Dr Grażyna Ewa Będkowska była współwykonawcą kilku projektów badawczych realizowanych w ramach prac statutowych finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. W latach 2010-2014 była współwykonawcą grantu badawczego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego pt. „Wybrane cytokiny i metaloproteinazy jako markery nowotworów narządu rodnego”. Od 2015 r. jest kierownikiem dwóch projektów badawczych dotyczących roli metaloproteinaz, ich tkankowych inhibitorów oraz chemokin jako markerów nowotworowych raka jajnika.

Jest członkiem Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych (KIDL) i Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej (PTDL).

Reasumując cały dorobek naukowy: Sumaryczny *impact factor* to **36,062** punkty MNiSW **474** Indeks Hirscha wg Web of Science: **7** Liczba cytowań wg Web of Science: **142**

Z wyżej przeprowadzonej analizy wynika, że działalność naukowa habilitantki jest wyraźnie ukierunkowana. W podsumowaniu tej działalności należy zwrócić uwagę na znaczący dorobek naukowy. Co ważne, dorobek ten uzyskany był w stosunkowo krótkim czasie co niewątpliwie świadczy o dużym zaangażowaniu habilitantki w pracę naukową i rokuje bardzo dobrze na przyszłość.

III Działalność dydaktyczna organizacyjna i popularyzatorska.

W zakresie działalności dydaktycznej habilitantka prowadzi zajęcia ze studentami III roku Wydziału Lekarskiego, a od 2010 także dla studentów anglojęzycznych Wydziału Lekarskiego z Oddziałem English Division w ramach przedmiotu Diagnostyka Laboratoryjna. Prowadzi także ćwiczenia dla studentów IV roku Kierunku Analityka Medyczna Wydziału Farmaceutycznego UMB z zakresu Hematologia Laboratoryjna i Praktyczna Nauka Zawodu, oraz zajęcia

dydaktyczne dla kierunku Dietetyka i Pielęgniarstwo Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z zakresu Nowoczesnych Technik Diagnostycznych.

Była kierownikiem 7 oraz recenzentem 22 oryginalnych prac magisterskich.

Jest koordynatorem odpowiedzialnym za nadzór nad opracowaniem, wdrożeniem i okresową aktualizacją standardów akredytacyjnych Centrum Monitorowania Jakości w Ochronie Zdrowia w zakresie diagnostyki laboratoryjnej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku.

Wniosek końcowy

Przedstawiony cykl publikacji **„Wybrane biomarkery reakcji zapalnej i angiogenezy w diagnostyce nowotworów piersi i jajnika”** wnosi nowe elementy w dziedzinie diagnostyki biochemicznej nowotworów i spełnia kryteria osiągnięcia naukowego. Razem z pozostałymi publikacjami dorobek naukowy dr n. med. Grażyna Ewa Będkowska należy uznać za znaczący i wartościowy.

Dr n. med. Grażyna Ewa Będkowska spełnia kryteria określone w Ustawie o stopniach i tytułach naukowych z dnia 3 lipca 2018 roku (Dz. U. 2018)

Jako recenzent powołany przez Centralną Komisję do Spraw Stopni i Tytułów Naukowych w przedmiotowej sprawie, mam zaszczyt przedstawić Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie dr n. med. Grażyny Ewy Będkowskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. zw. dr hab. n. med. Andrzej Starczewski

5310473 Prof. dr hab. n. med. Andrzej Starczewski
Z wyrażeniem zgody na
Załącznik nr 1 do wniosku nr 10