Prof. dr hab. Ewa Jabłońska

Zakład Immunologii

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Białystok, 21.10.2019r.

Ocena osiągnięcia naukowego
zatytułowanego „**Wybrane biomarkery reakcji zapalnej i angiogenezy w diagnostyce nowotworów piersi i jajnika**"
oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego
dr n.med. Grażyny Ewy Będkowskiej
adiunkta w Zakładzie Diagnostyki Hematologicznej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Dr n. med. Grażyna Ewa Będkowska, absolwentka Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej w Białymstoku, po uzyskaniu dyplomu magistra analityki medycznej w 2002r., rozpoczęła swoją działalność zawodową jako wolontariusz w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej, Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. W 2005r. rozpoczęła Studia Doktoranckie w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej, Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku i w 2010r. uzyskała dyplom ukończenia Studiów oraz dyplom doktora nauk medycznych. W latach 2010-2012 pracowała jako młodszy asystent w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej, Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Od 2012 roku pracowała kolejno jako asystent, a od 2018r. do chwili obecnej jako adiunkt w Zakładzie Diagnostyki Hematologicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

I. Osiągnięcie naukowe dr Grażyny Ewy Będkowskiej, będące podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego

Na osiągnięcie naukowe dr Grażyny Ewy Będkowskiej składa się cykl sześciu prac pod łącznym tytułem „**Wybrane biomarkery reakcji zapalnej i angiogenezy w diagnostyce nowotworów piersi i jajnika".**

Ogromnym wyzwaniem dla współczesnej medycyny jest stale wzrastająca liczba zachorowań na nowotwory. W populacji kobiet poważny problem stanowi rak piersi i rak jajnika. Mimo ogromnego postępu wiedzy w tym zakresie i nowoczesnych rodzajów terapii, są

one nadal częstą przyczyną śmierci, ponieważ rozpoznanie następuje zwykle w zaawansowanej fazie choroby. Ponadto, wykorzystywane w diagnostyce markery biochemiczne cechuje niedostateczna czułość i swoistość. Istnieje zatem konieczność poszukiwania nowych bardziej specyficznych biomarkerów ułatwiających nie tylko diagnostykę i monitorowanie efektów leczenia, ale także pozwalające na wczesne wykrycie wznowy procesu nowotworowego.

Istotną rolę w procesie nowotworowym odgrywa układ immunologiczny, który nadzoruje wzrost i eliminację komórek nowotworowych na różnych etapach rozwoju. Szczególną funkcję w tym zakresie pełnią elementy odpowiedzi komórkowej swoistej, z kluczową aktywnością limfocytów T cytotoksycznych oraz komórki odpowiedzi nieswoistej, obejmujące między innymi makrofagi i komórki NK. Ich powstawanie, dojrzewanie i różnicowanie jest kontrolowane przez różnorodne hematopoetyczne czynniki wzrostu (HGFs), wydzielane nie tylko przez komórki immunologicznie kompetentne, ale również przez komórki śródbłonków i nabłonków oraz komórki różnych tkanek i narządów. Mogą być one produkowane także przez komórki nowotworowe. Ważną rolę odgrywają także czynniki proangiogenne oraz białka i enzymy, uczestniczące w degradacji elementów macierzy pozakomórkowej (metaloproteinazy), których aktywność może sprzyjać rozwojowi nowotworu.

Tematyka publikacji składających się na osiągnięcie naukowe obejmuje badania nad poszukiwaniem wśród HGFs oraz cytokin proangiogennych i metaloproteinaz, specyficznych biomarkerów przydatnych w diagnostyce raka piersi i raka jajnika.

Na szczególną uwagę zasługują, należące do tej grupy mediatorów, czynnik stymulujący kolonie makrofagowe (M-CSF), czynnik wzrostu komórek pnia (SCF), czynnik stymulujący kolonie granulocytarno-makrofagowe (GM-CSF) czy czynnik stymulujący kolonie granulocytarne (G-CSF), czynnik wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF), zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF) czy transformujący czynnik wzrostu –beta (TGF-β). Poza rolą w dojrzewaniu i różnicowaniu komórek układu krwiotwórczego, uczestniczą one w regulacji szeregu ich funkcji, związanych z procesem zapalnym, który wiąże się procesem nowotworowym.

Według wielu doniesień, stężenia czynników wzrostu znacząco wzrastają we krwi chorych na różne nowotwory i mogą być wykorzystywane w diagnostyce i monitorowaniu efektów terapii.

Biorąc powyższe pod uwagę, celowe i w pełni uzasadnione jest podjęcie przez dr n.med. Grażynę Ewę Będkowską badań nad poszukiwaniem, wśród czynników wzrostu, u chorych na raka piersi oraz u chorych na raka jajnika nowych markerów diagnostycznych w konfrontacji z klasycznymi markerami tych nowotworów.

Łączny IF prac wchodzących w skład prezentowanego osiągnięcia naukowego wynosi 12.816, a całkowita punktacja MNiSW – 135.

Pierwsza praca, wchodząca w skład osiągnięcia, przedstawia wyniki dotyczące poszukiwania markerów wśród czynników wzrostu takich jak: IL-3, SCF, GM-CSF, G-CSF oraz M-CSF u pacjentek z typem przewodowym raka piersi. Jedynie M-CSF i G-CSF wykazywały wzrost stężeń, a SCF osiągał niższe wartości niż w grupie kontrolnej (co może być traktowane jako marker ujemny). Szczególną wartość wykazały oznaczenia M-CSF, syntetyzowanego także przez komórki raka piersi i posiadające jednocześnie receptor M-CSFR. Zaobserwowano, że jego stężenia i stężenia klasycznego markera CA15-2 wzrastały wraz ze stopniem zaawansowania według klasyfikacji TNM. Poza tym, stwierdzono wyższą czułość diagnostyczną dla M-CSF niż dla CA15-3 oraz najwyższą czułość dla oznaczania obu markerów jednocześnie. Ponadto, najwyższa swoistość diagnostyczna, wartość predykcyjna wyniku dodatniego i ujemnego oraz moc diagnostyczna wyraźnie wskazują, że M-CSF może być użytecznym markerem raka piersi, zwłaszcza w połączeniu z CA15-3.

W kolejnej publikacji uwzględnione zostały osiągnięcia uzyskane wcześniej i poszerzono wartościowy panel diagnostyczny markerów: M-CSF i CA15-3 o czynnik wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF). Jego wysoką ekspresję na poziomie mRNA i białka wykryto w komórkach raka piersi. Rolą VEGF jest stymulacja wzrostu guza, progresji oraz powstawania przerzutów na drodze aktywacji procesu neoangiogenezy. Podobnie jak w poprzednim badaniu, M-CSF uzyskał najwyższe wartości wskaźników diagnostycznych, ale najwyższą wartość wykazano dla trzech biomarkerów oznaczanych łącznie. Czułość diagnostyczna M-CSF była wyższa niż w przypadku CA15-3, ale też wyższa w porównaniu z VEGF. Poza tym, w przeciwieństwie do M-CSF, stężenia VEGF były wyższe także w grupie ze zmianami łagodnymi, zatem M-CSF wydaje się być najlepszym markerem. Analiza badanych parametrów z uwzględnieniem stopnia zaawansowania wykazała największą moc diagnostyczną przy jednoczesnym oznaczaniu M-CSF, VEGF i CA-15-3. Poza potwierdzeniem wcześniejszych wyników dotyczących M-CSF, przeprowadzone badania wskazują, że panel markerów obejmujący łączną analizę M-CSF, VEGF i CA15-3 może być przydatny w diagnostyce raka piersi.

Kolejne badania Kandydatki dotyczyły oceny diagnostycznej oznaczeń VEGF z jednoczesną oceną klasycznych markerów CA125 i antygenu HE4 u chorych na raka płaskonabłonkowego jajnika. Istotną obserwacją jest wzrost czułości diagnostycznej jednoczesnego oznaczania trzech badanych parametrów, aż do ponad 90% czułości diagnostycznej w zaawansowanym stadium choroby. Wysokie wartości czułości diagnostycznej, swoistości diagnostycznej, wartości predykcyjnej wyniku dodatniego i ujemnego, porównywalne z CA125 i HE4, wskazują na potencjalną przydatność oznaczania VEGF w diagnostyce raka jajnika. W opinii Habilitantki ocena stężeń tej cytokiny może być przydatna zarówno w ocenie progresji raka jajnika, jak i w różnicowaniu między typem endometrioidalnym i surowiczym.

W poszukiwaniu nowych markerów diagnostycznych w raku jajnika, dr Grażyna Ewa Będkowska zwróciła swoja uwagę na M-CSF i porównała wartość jego oznaczania z uznanymi klasycznymi markerami, CA125 i HE4. Podobnie, jak w przypadku raka piersi, wykazała znaczącą przydatność oceny M-CSF u chorych na raka jajnika, zwłaszcza w przypadkach postaci surowiczej. Wysokie stężenia M-CSF mogą w istotny sposób wpływać na produkcję cytokin pro-zapalnych, które stymulują proliferację komórek raka jajnika. Na podkreślenie zasługuje też możliwość różnicowania między rakiem jajnika a torbielami jajnika w oparciu o jednoczesne oznaczanie markerów M-CSF, CA125 i HE4.

Niezwykle ważną rolę w procesie nowotworowym odgrywają metaloproteinazy (MMP), które poprzez degradację struktur macierzy pozakomórkowej oraz kolagenu typu IV naczyniowej błony podstawnej ułatwiają komórkom nowotworowym inwazyjność. Zaangażowane w degradację błony naczyniowej są głównie MMP-2, MMP-7 i MMP-9. Regulatorami aktywności metaloproteinaz są ich tkankowe inhibitory (TIMP), krążące w płynach ustrojowych. Ich znaczenie w procesie nowotworowym podkreśla szereg innych ważnych funkcji, takich jak regulacja procesów różnicowania i wzrostu oraz apoptozy, a także działanie antyangiogenne.

Wybór do oznaczeń MMP-7 i jej inhibitora TIMP-1 w konfrontacji z klasycznymi markerami Ca125 i HE4 u chorych na raka jajnika wydaje się szczególnie trafny. MMP-7 (matrylizyna) uznawana jest za marker złośliwości niektórych nowotworów, a wzrost jej ekspresji koreluje z inwazyjnością guza oraz zdolnością do przerzutów.

Znamiennie wyższe stężenia MMP-7 i TIMP-1, obserwowane u chorych na raka jajnika w porównaniu z grupą kontrolną i grupą ze zmianami łagodnymi jajnika, wzrastały

w wyższych stopniach zaawansowania według klasyfikacji TNM. Podobne zmiany dotyczyły także markerów CA125 i HE4, co potwierdzają korelacje między badanymi parametrami. Czułość diagnostyczna dla MMP-7 była na poziomie CA125 i HE4, a najwyższą stwierdzono w przypadku łącznego oznaczania MMP-7 z CA125 i HE4. Najniższy odsetek podwyższonych stężeń obserwowano w przypadku TIMP-1, co w porównaniu z MMP-7 może prowadzić do konsekwencji wynikających z nadmiernej aktywności tej matrylizyny. Wysoka moc diagnostyczna dla MMP-7, na nieznacznie niższym poziomie w porównaniu z CA125 i HE4 i wysoka jej wartość w przypadku jednoczesnej analizy trzech badanych parametrów, wskazują na przydatność oznaczania MMP-7 w połączeniu z klasycznymi markerami CA125 i HE4 u chorych na raka jajnika, zwłaszcza we wczesnych stadiach choroby.

W oparciu o wiedzę zdobytą podczas wcześniejszych badań nad wartością diagnostyczną nowych markerów u chorych na raka jajnika, Habilitantka zaplanowała i zrealizowała badania nad poszerzonym panelem dotychczas oznaczanych parametrów. Uwzględniła w nich M-CSF, VEGF, MMP-2, MMP-7, TIMP-1 i TIMP-2 w konfrontacji z CA125 i HE4. Najwyższą czułość diagnostyczną, na poziomie antygenu HE4 osiągnęła metaloproteinaza -7, a jednoczesna analiza z MMP-9 lub M-CSF oraz CA125 i HE4 podniosła wartość SE do 95%. Natomiast najwyższym wskaźnikiem swoistości diagnostycznej wykazały się M-CSF, VEGF i MMP-9. Ponadto, łączna analiza MMP-7, MMP-9 lub VEGF z CA125 i HE4 osiągnęła najwyższą moc diagnostyczną, co potwierdza ich znaczenie w diagnostyce raka jajnika.

Na podstawie opublikowanych i omówionych wyników przeprowadzonych badań dr Grażyna Ewa Będkowska sformułowała 7 wniosków.

Najważniejszy z nich wskazuje na nowe biomarkery nowotworowe – M-CSF w raku piersi i VEGF w raku jajnika, przydatne w procesie diagnostycznym, zwłaszcza w panelu z klasycznymi markerami.

Ponadto, typuje te czynniki wzrostu jako wskaźniki progresji, odpowiednio M-CSF w raku piersi, a VEGF w raku jajnika. Habilitantka podkreśla także możliwość wykorzystania M-CSF w różnicowaniu raka i zmian łagodnych w obrębie piersi.

Interesujący jest także kolejny wniosek, wskazujący na potencjalną rolę oznaczania VEGF i M-CSF w różnicowaniu między typem surowiczym i endometrioidalnym nabłonkowego raka jajnika.

Ponadto, Kandydatka zwraca uwagę na znaczącą przydatność diagnostyczną metaloproteinaz MMP-7 i MMP-9, ocenianą na poziomie klasycznych markerów raka jajnika. Zaznacza jednocześnie niską przydatność oznaczania ich inhibitorów w tej grupie pacjentek.

Podsumowując, przedstawiony przez dr Grażynę Ewę Będkowską cykl publikacji, nie tylko poszerza dotychczasową wiedzę na temat biomarkerów, ale w istotny sposób może przyczynić się do lepszej i szybszej diagnostyki oraz prognozowania w raku piersi i raku jajnika. Na szczególne podkreślenie zasługuje duża liczebność badanych grup pacjentek oraz grup kontrolnych, co w istotny sposób podnosi rangę uzyskanych wyników. Potwierdzeniem jest wysoki współczynnik IF czasopism, w których zostały opublikowane prace.

II. Inne osiągnięcia naukowe Kandydatki

Znaczna większość innych osiągnięć naukowych Knadydatki jest również poświęcona poszukiwaniu nowych markerów diagnostycznych w chorobach nowotworowych. Obejmują one łącznie 28 prac, w tym w 12 jest pierwszym lub drugim autorem. Jest także współautorem 32 krajowych i zagranicznych doniesień zjazdowych. Łączny IF publikacji wynosi 36.062, a punktacja MNiSW – 474 punkty, indeks Hirscha wg Web of Science - 7, liczba cytowań wg Web of Science – 142.

Interesującym podejściem do zagadnienia biomarkerów przydatnych w diagnostyce nowotworów, jest połączona analiza wybranych czynników wzrostu i metaloproteinaz w raku piersi i jajnika. Znaczna część publikacji dotyczy badań nad przydatnością diagnostyczną hematopoetycznych czynników wzrostu, cytokin i metaloproteinaz w tych nowotworach oraz w nowotworach macicy. Prace dotyczące raka piersi i jajnika oceniają wcześniej badane parametry, ale w innym układzie niż uwzględnione w osiągnięciu naukowym, co pozwala na szerszą i bardziej wnikliwą analizę danych.

Na uwagę zasługują też badania nad przydatnością diagnostyczną HGFs u chorych na raka trzonu macicy. Wysoki odsetek podwyższonych stężeń M-CSF i SCF wskazuje, że spośród grupy badanych czynników wzrostu, to one mogą być potencjalnymi markerami tego nowotworu. Najwyższa czułość diagnostyczna, obserwowana w przypadku jednoczesnego oznaczania M-CSF i markera CA125 oraz moc diagnostyczna dla M-CSF potwierdza znaczenie tego czynnika, jako cennego markera raka trzonu macicy.

Kontynuując badania w nowotworach macicy, przeprowadzona została analiza stężeń wybranych czynników wzrostu i metaloproteinaz u chorych na raka szyjki macicy, w konfrontacji z klasycznymi markerami - CA125 i SCC-Ag. Czynnik wzrostu M-CSF ponownie okazał się markerem o wysokiej czułości i mocy diagnostycznej, przydatnym w diagnostyce tego nowotworu. Poza tym, wykazano, że oznaczanie cytokiny VEGF, która osiąga znaczną moc diagnostyczną, sugeruje możliwość jej wykorzystania w diagnostyce raka szyjki macicy.

Odrębnym i oryginalnym zagadnieniem w pracy naukowej Habilitantki, jest udział w pionierskich badaniach nad wykorzystaniem wybranych metaloproteinaz i ich tkankowych inhibitorów u chorych na łuszczycę. Wysokie stężenia MMP-2, MMP-3 , MMP-9 i TIMP-3 oraz niższe ich wartości po zastosowanej terapii lampami UVB wskazują, że mogą one być pomocne w procesie diagnostycznym tej choroby.

Dr Grażyna Ewa Będkowska prowadziła przedstawione powyżej badania, jako członek zespołów realizujących projekty statutowe, przy współudziale Kliniki Onkologii oraz Kliniki Ginekologii UMB. Uczestniczyła również w realizacji grantu MNiSW, dotyczącego markerów nowotworu narządu rodnego.

Liczne Nagrody Naukowe JM Rektora UMB oraz zaproszenia do recenzji prac dla renomowanych czasopism, takich jak: Cancer Investigation, Cancer Biomarkers czy Clinica Chimica Acta, świadczą o znaczącej pozycji dr Grażyny Ewy Będkowskiej w środowisku naukowym, nie tylko w Polsce, ale i za granicą.

III. Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Dr Grażyna Ewa Będkowska prowadzi zajęcia dydaktyczne z zakresu Diagnostyki Laboratoryjnej dla studentów Wydziału Lekarskiego UMB oraz Hematologii Laboratoryjnej dla studentów Analityki Medycznej. Habilitantka prowadzi także zajęcia ze studentami Wydziału Nauk o Zdrowiu z zakresu Nowoczesnych Technik Diagnostycznych.

Kandydatka pełni obecnie ważną i odpowiedzialną funkcję Koordynatora opracowania, wdrożenia i okresowej aktualizacji standardów akredytacyjnych Centrum Monitorowania Jakości w Ochronie Zdrowia w zakresie Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku.

IV. Wniosek końcowy

Po wnikliwej analizie osiągnięcia naukowego oraz całego dorobku naukowego i dydaktycznego uważam, że dr Grażyna Ewa Będkowska spełnia kryteria określone w ustawie z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, z późniejszymi zmianami w sprawie kryterium oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.