

Prof. dr hab. Ewa Jabłońska  
Zakład Immunologii  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Białystok, 29 lipca 2016r.

Ocena osiągnięcia naukowego  
zatytułowanego „**Mediatory reakcji zapalnej jako markery nowotworowe przelyku**”  
oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego  
**dr n.med. Marty Łukaszewicz- Zajac**  
adiunkta w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej  
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Dr n.med. Marta Łukaszewicz-Zajac jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Akademii Medycznej w Białymstoku. Po uzyskaniu dyplomu magistra analityki medycznej w 2006r. rozpoczęła studia doktoranckie na tym samym Wydziale, które zaowocowały pracą doktorską, obronioną w 2010 roku. W latach 2009-2013 była asystentem, a od 2013r. jest adiunktem w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Zainteresowania naukowe Kandydatki charakteryzuje spójność tematyczna i dotyczy zagadnień związanych z poszukiwaniem specyficznych wskaźników biochemicznych w procesie diagnostycznym u chorych na nowotwory przewodu pokarmowego.

**I. Osiągnięcie naukowe dr Marty Łukaszewicz-Zajac, będące podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego**

Na osiągnięcie naukowe dr Marty Łukaszewicz-Zajac, będące podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, składa się cykl sześciu prac, pod łącznym tytułem „**Mediatory reakcji zapalnej jako markery nowotworowe przelyku**”.

Tematyka tych publikacji dotyczy badań nad przydatnością diagnostyczną i prognostyczną wybranych markerów procesu zapalnego w grupie chorych na raka przelyku. Mimo ogromnego postępu wiedzy na temat mechanizmów powstawania i rozwoju nowotworów, to jest ona jednak na tyle niedostateczna, że nie pozwala precyzyjnie określić jakie wskaźniki biochemiczne mogą być przydatne, jako potencjalne markery w diagnostyce tych chorób. Biorąc pod uwagę wzrastającą częstość występowania raka przelyku oraz

udowodniony ścisły związek między reakcją zapalną a rozwojem nowotworu, podjęty przez dr Łukaszewicz-Zajęc kierunek badań wydaje się bardzo aktualny i ze wszech miar uzasadniony.

Publikacje tworzące osiągnięcie naukowe to prace zbiorowe, w których pierwszym autorem jest Kandydatka, określająca swój wkład własny na 70 do 90%:

- 1/ Łukaszewicz-Zajęc M, Mroczo B, Kozłowski M, Nikliński J, Laudański J, Szmitkowski M: Clinical significance of serum macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) in esophageal cancer patients and its comparison with classical tumor markers. *Clin Chem Lab Med.*2010; 48:1467-1473.
- 2/ Łukaszewicz-Zajęc M, Mroczo B, Kozłowski M, Nikliński J, Laudański J, Szmitkowski M: Higher importance of interleukin-6 (IL-6) than classic tumor markers (CEA and SCC-Ag) in the diagnosis of esophageal cancer patients. *Dis Eso.* 2012; 25:242-249
- 3/ Łukaszewicz-Zajęc M, Mroczo B, Kozłowski M, Nikliński J, Laudański J, Siewko M, Szmitkowski M: Comparative evaluation of C-reactive protein (CRP) levels in the different histological subtypes of esophageal cancer (squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of esophagus). *J Clin Lab Anal.* 2012; 26:73-81
- 4/ Łukaszewicz-Zajęc M, Mroczo B, Kozłowski M, Szmitkowski M: Stem cell factor (SCF) in the serum of patients with esophageal cancer (EC) in relation to its histological types. *Arch Med Sci.* 2016/DOI: 10.5114/aoms.2015.55711 – praca przyjęta do druku
- 5// Łukaszewicz-Zajęc M, Mroczo B, Szmitkowski M: Chemokines and their receptors in esophageal cancer – the systematic review and future perspectives. *Tumor Biol.* 2015; 36:5707-5714
- 6/ Łukaszewicz-Zajęc M, Mroczo B, Kozłowski M, Szmitkowski M: The serum concentrations of chemokine CXCL12 and its specific receptor CXCR4 in patients with esophageal cancer. *Dis Markers.* 2016; 7963895:1-7

Łączny IF prac wchodzących w skład osiągnięcia wynosi **12**, a łączna punktacja MNiSW - **147**.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że wybrane przez Kandydatkę mediatory obejmują różne fazy zapalenia, począwszy od momentu powstawania leukocytów, poprzez ich rekrutację i funkcje efektorowe, które wpływają także na przebieg procesu nowotworowego.

Za szczególnie istotne uważam badania nad oceną przydatności diagnostycznej hematopoetycznych czynników wzrostu, takich jak czynnik komórek macierzystych - SCF oraz czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów - M-CSF, które nie tylko regulują

proces dojrzewania i różnicowania komórek, ale także determinują ich udział w odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciw komórkom nowotworowym.

Uzyskane przez Kandydatkę wyniki wyraźnie wskazują, że M-CSF spełnia kryteria markera nowotworowego u chorych na raka przełyku, co zostało udokumentowane poprzez wykazanie bezpośredniej zależności między jego wysokimi stężeniami a stopniem zaawansowania, wielkością guza, obecnością przerzutów w węzłach chłonnych i przerzutów odległych oraz czasem przeżycia. Potwierdzeniem przydatności oznaczania M-CSF w tej grupie pacjentów jest wysoka czułość diagnostyczna, znacznie przekraczająca wartości uzyskane dla klasycznych markerów CEA i SCC-Ag, osiągając 86% w przypadku łącznego oznaczania M-CSF i SCC-Ag.

W przeciwieństwie do M-CSF, analiza stężeń SCF w badanej grupie chorych nie wykazała jednoznacznych, istotnych statystycznie różnic w odniesieniu do grupy kontrolnej. Wyniki wskazują jedynie na tendencję w kierunku niższych stężeń u pacjentów w IV stopniu zaawansowania w klasyfikacji TNM. Według Autorki oznaczenia SCF cechuje wysoka czułość diagnostyczna wynosząca 88%, i również, tak jak w przypadku M-CSF, osiągająca najwyższe wartości, aż do 91%, przy łącznej analizie z klasycznym markerem, ale w tym przypadku CEA. Dane te wyraźnie wskazują, że oznaczanie stężeń SCF może być pomocne w diagnostyce raka przełyku. Ważne z punktu widzenia diagnostyki różnicowej, między poszczególnymi typami histologicznymi raka przełyku, okazały się niższe stężenia SCF w surowicy chorych na raka płaskonabłonkowego (ESCC) niż w przypadku gruczolaka (AC).

Kolejnym krokiem w poszukiwaniu wskaźników biochemicznych, zaangażowanych w proces powstawania komórek, a także rozwój i utrzymanie procesu zapalnego i nowotworowego, było oznaczanie IL-6 w konfrontacji ze stanem klinicznym pacjentów oraz antygenami CEA i SCC-Ag. Wzrost stężeń IL-6 wraz z zaawansowaniem nowotworu, zarówno w przypadku raka płaskonabłonkowego, jak i gruczolaka, w połączeniu z wysoką czułością diagnostyczną i mocą diagnostyczną wskazuje, że IL-6 wydaje się spełniać kryteria markera nowotworowego, bardziej przydatnego w diagnostyce raka przełyku, niż CEA i SCC-Ag. Dotyczy to szczególnie chorych na raka płaskonabłonkowego. Ponadto, dr Marta Łukaszewicz-Zajac udowadnia, że łączna analiza stężeń IL-6 i SCC-Ag może służyć jako ważny prognostyczny czynnik przeżycia w badanej grupie chorych.

Uwzględniając kluczową rolę IL-6 w indukcji syntezy białka C-reaktywnego (CRP) w wątrobie i jego potencjalnego, chociaż mało poznanego, udziału w procesie nowotworowym, Kandydatka przeprowadziła badania nad przydatnością jego oznaczania

w procesie diagnostycznym u chorych na raka przełyku, podkreślając przy tym, że zastosowana metoda jest prosta i szybka w wykonaniu. Uzyskane wyniki wskazują na wysoką czułość diagnostyczną (73%) oznaczania białka CRP w badanej grupie chorych, a szczególnie u chorych na raka płaskonabłonkowego. Łączna analiza CRP z antygenami CEA i SCC-Ag pozwoliła stwierdzić, że CRP może stanowić ważny element uzupełniający proces diagnostyczny w oparciu o CEA i SCC-Ag, a także pełnić rolę czynnika prognostycznego przeżycia wszystkich badanych pacjentów.

Ważnym krokiem w toku badań nad poszukiwaniem nowych znaczników biochemicznych procesu nowotworowego wśród mediatorów zapalnych było zainteresowanie Kandydatki grupą chemokin i ich receptorów. Analiza doniesień na temat tych białek w przebiegu różnych nowotworów, w tym także u chorych na raka przełyku, została przedstawiona w pracy poglądowej i stała się punktem wyjścia do własnych badań w tym zakresie.

Szczególną rolę w rozwoju nowotworu pełni chemokina CXCL12 i jej receptor CXCR4, których ekspresja została uznana przez niektórych autorów jako ważny czynnik predykcyjny i prognostyczny w przebiegu raka płaskonabłonkowego przełyku. Kompleks ten jest bezpośrednio zaangażowany w rozwój nowotworów, m.in. poprzez stymulację proliferacji i adherencji komórek nowotworowych, a także regulację czasu ich przeżycia na drodze indukcji różnych wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych. Poza tym, udowodniono, że wpływa on na proces neoangiogenezy i powstawanie ognisk wtórnych nowotworu. Potwierdzeniem znaczenia tego kompleksu w promocji nowotworów są próby terapeutycznego blokowania receptora CXCR4, co stanowi w chwili obecnej cel potencjalnej antynowotworowej terapii genowej w raku przełyku. Brak danych na temat zachowania się stężeń tych cząsteczek w surowicy krwi tej grupy chorych, co mogłoby stanowić ważny i łatwy do oznaczenia wskaźnik diagnostyczny, skłonił Kandydatkę do podjęcia własnych badań w tym zakresie.

Oryginalnym pomysłem było połączenie oznaczeń chemokiny CXCL12 i receptora CXCR4 z białkiem CRP, w konfrontacji z antygenami CEA i SCC-Ag. Uzyskano bardzo interesujące wyniki wskazujące na wzrost stężeń CXCL12 oraz jednoczesne obniżenie stężeń receptora CXCR4 wraz z zaawansowaniem choroby, uwzględniającym wielkość guza i przerzuty do węzłów chłonnych. Powyższe obserwacje sugerują przydatność ich oznaczania jako potencjalnych wskaźników progresji nowotworu. Potwierdzeniem jest czułość diagnostyczna dla oznaczeń obu białek, najwyższa dla CXCR4, wynosząca 80% i niższa dla CXCL12, określona na poziomie 47%. W obu przypadkach jednak wyniki te

przewyższyły wartości uzyskane dla CEA i SCC-Ag. Natomiast czułość diagnostyczna oceniana dla oznaczeń białka CRP wynosiła 57%. Szczególnie ważnym rezultatem tych badań było wykazanie najwyższej, spośród wszystkich analizowanych białek, wartości predykcyjnej wyniku ujemnego dla receptora CXCR4. Na podkreślenie zasługuje też fakt, że najwyższą czułość diagnostyczną wynoszącą 94% oraz moc diagnostyczną na podobnym poziomie, obserwowano w przypadku łącznej analizy CXCL12 i CXCR4, co wyraźnie wskazuje na przydatność oznaczania obu białek w procesie diagnostycznym raka przełyku.

Na podstawie opublikowanych wyników badań własnych, stanowiących osiągnięcie naukowe pod tytułem „**Mediatory reakcji zapalnej jako markery nowotworowe przełyku**” dr Łukaszewicz-Zajac sformułowała 4 wnioski.

Stwierdza w nich m.in., że wszystkie badane mediatory procesu zapalnego u chorych na raka przełyku charakteryzują się wysoką przydatnością diagnostyczną (wyższą niż markery klasyczne), określoną parametrami czułości i mocy diagnostycznej. Szczególnie istotne było wykazanie, że przydatność ta wzrasta przy ich łącznej analizie z klasycznymi markerami raka przełyku.

Podkreśla też, że klasyczne wskaźniki procesu zapalnego, takie jak białko CRP i IL-6 są istotnymi parametrami oceny progresji nowotworu i rokowania czasu przeżycia pacjentów.

Ponadto, zwraca uwagę na przydatność oznaczania SCF w różnicowaniu histologicznych typów nowotworów przełyku (rak płaskonabłonkowy, gruczolakorak).

Kandydatka zaznacza również, że badane parametry są bardziej przydatne w diagnostyce płaskonabłonkowego raka przełyku (ESCC), niż gruczolakoraka.

W mojej opinii, Autorka mogłaby wskazać, które spośród wszystkich badanych parametrów wydają się najbardziej przydatne w procesie diagnostycznym raka przełyku. Stanowiłoby to dodatkową wartość przedstawionego osiągnięcia, zarówno pod względem poznawczym, jak i praktycznym i pozwoliłoby precyzyjnie określić, które z nich mogłyby być wykorzystywane w rutynowej diagnostyce tego nowotworu.

Uwaga ta nie umniejsza wartości osiągnięcia naukowego dr Marty Łukaszewicz-Zajac, ale stanowi wskazówkę do dalszej pracy naukowo-badawczej. Przedstawiony cykl publikacji jest oryginalnym opracowaniem wnoszącym istotny wkład do wiedzy na temat wskaźników biochemicznych pomocnych w diagnostyce i prognozowaniu nowotworów przełyku. Na podkreślenie zasługuje nowatorski charakter łączenia ze sobą niektórych parametrów, np. chemokiny CXCL12 i jej receptora CXCR4 z białkiem CRP. Dzięki jednoczesnej analizie badanych mediatorów zapalnych z klasycznymi markerami raka przełyku, Kandydatka wykazała większą ich przydatność diagnostyczną. Biorąc też pod uwagę zmiany

stężeń ocenianych parametrów zapalnych, obserwowane w różnych fazach choroby, został potwierdzony bezpośredni związek przyczynowo-skutkowy między procesem zapalnym i nowotworowym, i jego istotna rola w rozwoju raka przełyku.

## **II. Inne osiągnięcia naukowe Kandydatki**

Dotyczą one zagadnień także związanych z poszukiwaniem wskaźników biochemicznych przydatnych w diagnostyce nowotworów przewodu pokarmowego, w tym również raka przełyku. Dorobek ten obejmuje 17 prac oryginalnych i poglądowych oraz 17 doniesień zjazdowych.

Badając czynniki wzrostu, takie jak G-CSF, GM-CSF, M-CSF oraz SCF w surowicy chorych na raka żołądka, stwierdziła najwyższą czułość diagnostyczną i moc diagnostyczną dla oznaczeń G-CSF, natomiast najwyższą swoistość dla oznaczeń M-CSF. Podobnie w przypadku chorych na raka trzustki, M-CSF, zwłaszcza w połączeniu z oznaczaniem CA 19-9, wydaje się pełnić rolę markera przydatnego w procesie diagnostycznym raka żołądka.

Na uwagę zasługują też badania nad potencjalnym znaczeniem pomiaru stężeń metaloproteinazy-9 (MMP-9) oraz jej inhibitora TIMP-1 w diagnostyce nowotworów przewodu pokarmowego. Wydaje się to szczególnie ważne z punktu widzenia biologicznej aktywności metaloproteinaz, które wpływają na wzrost nowotworu na różnych etapach jego rozwoju. Istotnym osiągnięciem Kandydatki było wykazanie przydatności oznaczania TIMP-1 w diagnostyce raka żołądka i trzustki, również TIMP-1 w rokowaniu czasu przeżycia u chorych na raka żołądka, a na raka trzustki – MMP-9. Oznaczenie ekspresji MMP-9 i TIMP-1 w tkance nowotworowej pozwoliło potwierdzić ich związek z rozwojem raka przełyku i raka żołądka, wskazując jednocześnie na istotną rolę komórek zapalnych podścieliska w tym procesie.

Rozszerzając profil badanych metaloproteinaz, dr Marta Łukaszewicz-Zajac dokonała oznaczeń MMP-2 i jej inhibitora TIMP-2, w odniesieniu do antygenów CEA i CA 19-9. Zmiany stężeń MMP-2 i TIMP-2 w surowicy oraz ich ekspresji w tkance nowotworowej wyraźnie wskazują na większą przydatność diagnostyczną oznaczania obu białek niż klasycznych markerów nowotworowych.

U podstaw zainteresowań Kandydatki mediatorami procesu zapalnego w diagnostyce chorób nowotworowych przewodu pokarmowego, znajdują się wczesne badania dotyczące oznaczania białka CRP i IL-6 u chorych na raka żołądka i jelita grubego. Uzyskane wyniki

wykazały większą przydatność oceny stężeń tych parametrów w porównaniu ze stężeniami CEA i CA 19-9 u chorych na raka żołądka. Ponadto, według Autorki, wartości stężeń CRP i IL-6 pozwalają różnicować raka jelita grubego z polipami w tym narzędziu. Cennym wynikiem tych badań było także wykazanie, że CRP jest istotnym negatywnym wskaźnikiem prognostycznym przeżycia chorych na raka jelita grubego.

Znaczna część dorobku naukowego dr Marty Łukaszewicz-Zajac w ostatnich latach dotyczy badań nad potencjalnym wykorzystaniem oznaczania metaloproteinaz i ich inhibitorów oraz białka *visin-like protein - 1* (VILIP-1) jako biomarkerów chorób zwyrodnieniowych i nowotworowych ośrodkowego układu nerwowego. Pierwsze obiecujące wyniki zostały opublikowane w formie 4 prac oryginalnych i 3 doniesień zjazdowych.

Wszystkie osiągnięcia naukowe Kandydatki są wynikiem Jej udziału w realizacji kilkunastu projektów statutowych, prowadzonych we współpracy z różnymi Klinikami Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Od 4 lat jest ona także członkiem dwóch zespołów badawczych, w tym jednego międzynarodowego, które realizują programy poświęcone chorobom neurodegeneracyjnym. Udział w tych programach zawdzięcza swojej wiedzy i doświadczeniu, które zdobyła w znaczących ośrodkach krajowych i zagranicznych.

Dr Marta Łukaszewicz-Zajac, mimo młodego wieku, zdobyła już znaczącą pozycję w świecie naukowym, czego dowodem jest powierzanie Jej recenzji prac nadsyłanych do renomowanych czasopism o zasięgu światowym, a także ocen grantów międzynarodowych. Potwierdzeniem jej osiągnięć są liczne nagrody naukowe przyznawane przez JM Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

### **III. Działalność dydaktyczna i organizacyjna.**

Dr Marta Łukaszewicz-Zajac prowadzi zajęcia dydaktyczne w formie ćwiczeń, seminariów, wykładów oraz fakultetów dla studentów Analityki Medycznej Wydziału Farmaceutycznego, studentów Wydziału Lekarskiego oraz studentów Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Jest także opiekunem Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej. Była kierownikiem 6 prac magisterskich i pełniła funkcję Sekretarza i Recenzenta w Ogólnopolskim Konkursie prac magisterskich i doktorskich z zakresu medycyny laboratoryjnej.

Dzięki uzyskaniu dyplomu specjalisty w dziedzinie laboratoryjnej diagnostyki medycznej w 2012r., jest w chwili obecnej kierownikiem 4 specjalizacji, a także uczestniczy w realizacji kursów specjalizacyjnych dla diagnostów laboratoryjnych.

Dwukrotnie była współorganizatorem konferencji naukowo-szkoleniowych z zakresu chorób układu nerwowego.

#### **IV. Wniosek końcowy**

Podsumowując wartość przedstawionego osiągnięcia zatytułowanego „**Mediatorzy reakcji zapalnej jako markery nowotworowe przelyku**” oraz pozostały dorobek naukowy uważam, że dr Marta Łukaszewicz-Zajac spełnia wszelkie wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego i z pełnym przekonaniem zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Jej do kolejnego etapu w postępowaniu habilitacyjnym.

Z poważaniem,

K I E R O W N I K  
Zakładu Immunologii

  
prof. dr hab. n. med. Ewa Jabłońska