



UNIWERSYTET
WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE

WYDZIAŁ LEKARSKI, COLLEGIUM MEDICUM
Katedra Ginekologii i Położnictwa



dr hab. n. med. **Tomasz Waśniewski**, prof. UWM
Kierownik Katedry



RPW/1313/2024
Data: 2024-02-15
UMB

Olsztyn, dn. 7 lutego 2024 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Imię i nazwisko kandydata: **lek. Marta Baczewska**

Tytuł rozprawy doktorskiej: **Ekspresja transporterów substratów energetycznych u pacjentek z zaawansowanym surowiczym rakiem jajnika**

Promotor: **Prof. dr hab. n. med. Paweł Knapp**

Promotor pomocniczy/drugi promotor/kopromotor (jeżeli powołany): brak

Światowe rejestry epidemiologiczne, w tym rejestry Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem, której agendą zwierzchnią jest Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), odnotowały w 2020 roku 313 959 nowych zachorowań i 207 252 przypadki zgonów z powodu raka jajnika (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/25-Ovary-fact-sheet.pdf>). Tak wysoka zachorowalność, późna wykrywalność (utrudniona z uwagi na niekorzystną lokalizację anatomiczną, brak wczesnych objawów klinicznych choroby oraz brak testów przesiewowych) i jednocześnie wysoka śmiertelność wskazują, iż nowotwór jajnika należy rozpatrywać jako jeden z najpoważniejszych problemów ginekologii onkologicznej.

Pierwsze doniesienia dotyczące zmienionego metabolizmu komórek nowotworowych w stosunku do komórek prawidłowych odnotowano już na początku XX wieku. Stwierdzono, że w intensywnie proliferujących i różnicujących się komórkach nowotworowych intensyfikacja procesów metabolicznych dostarcza komórkom składników odżywczych i energii. Są one pozyskiwane w wyniku metabolizmu beztlenowego komórek nowotworowych (efekt Warburga), lub w wyniku procesów katabolicznych zachodzących w fibroblastach znajdujących się w otoczeniu guza (odwrotny efekt Warburga). W wyniku metabolizmu beztlenowego komórki nowotworowe pozyskują heksozy (głównie glukozę), natomiast dostarczane ze środowiska mleczany, ketony czy glutamina uczestniczą w pozyskiwaniu energii w postaci ATP na drodze przemian tlenowych. Niezależnie od drogi

pozyskiwania i rodzaju dostarczanych substancji, komórki o tak dużym potencjale proliferacyjnym i szybkim wzroście potrzebują dobrze rozwiniętego systemu odpowiedzialnego za transport substratów. Zablokowanie jego działania jest potencjalnym sposobem na zahamowanie rozwoju nowotworu. Stało się to również punktem wyjścia do prac nad lepszym poznaniem biologii nowotworów i poszukiwaniem rozwiązań dla terapii celowanych. Ponieważ surowiczy rak jajnika o wysokim stopniu złośliwości jest najczęstszym w tej grupie nowotworów ginekologicznych, a metabolizm tworzących go komórek nie został w pełni poznany, wysoce zasadnym jest fakt podjęcia przez Doktorantkę badań nad określeniem profilu ekspresji i zbadaniem powiązań pomiędzy ekspresją genów kodujących transportery substratów energetycznych, a parametrami klinicznymi, biochemicznymi oraz przeżyciem chorych na ten typ nowotworu. Wybór zagadnienia pracy doktorskiej przez Panią lek. Martę Baczewską oceniam wysoko.

Rozważania będące przedmiotem dysertacji zawarto w cyklu dwóch prac opatrzonych wspólnym tytułem: „*Ekspresja transporterów substratów energetycznych u pacjentek z zaawansowanym surowiczym rakiem jajnika*”. Jedna z publikacji jest pracą przeglądową, natomiast druga jest pracą oryginalną. Publikacje wchodzące w skład rozprawy zostały opublikowane w latach 2021-2022, w czasopismach uwzględnionych w rankingu *Journal Citation Reports*, ich treść została przedstawiona mi do oceny w języku polskim. Całość przedłożonego dokumentu liczy 100 stron, z czego 87 stron stanowi rozprawa doktorska. Poprzedza ją życiorys doktorantki oraz informacja bibliometryczna dotycząca dorobku. W skład właściwej rozprawy wchodzi informacja bibliometryczna dotycząca cyklu prac włączonych do rozprawy doktorskiej, wykaz stosowanych skrótów i oznaczeń, wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, podsumowanie, wnioski, kopie oryginalnych prac włączonych do rozprawy doktorskiej, streszczenia w języku polskim oraz angielskim, oświadczenia współautorów, zgoda komisji bioetycznej oraz bibliografia. Rozprawa zawiera wszystkie niezbędne elementy, ale w mojej ocenie układ rozprawy byłby bardziej przejrzysty gdyby rozdział *Bibliografia* znalazł się bezpośrednio za rozdziałem *Wnioski*, natomiast kopie oryginalne prace zostałyby umieszczone na samym końcu rozprawy lub przynajmniej przed oświadczeniami współautorów.

Rozdział *Wstęp* przedstawionej dysertacji składa się z rozdziałów i podrozdziałów. W rozdziale pierwszym opisana została epidemiologia. Pewien niedosyt pozostawia brak opisu w rozdziale pierwszym etiopatogenezy badanego nowotworu. Jednak brak ten zostaje uzupełniony w rozdziale piątym, dotyczącym patogenezy nowotworu. Wstawienie opisu etiopatogenezy nowotworu jajnika w tym miejscu, w zgrabny sposób tłumaczy znaczenie

podjęcia badań opisanych w pracy. W rozdziale drugim, Doktorantka przedstawiła podział nowotworów ze względu na ich pochodzenie, cechy histologiczne i molekularne, skupiła się jedynie na klasyfikacji opartej na ocenie histologicznej. Pomimo, że klasyfikacja ta jest właściwa, wskazane byłoby poparcie jej klasyfikacją molekularną, która obecnie zaczyna stanowić istotne narzędzie oceny klinicznej, diagnostyki i terapii nowotworów. Przy pracach badawczych z zakresu onkogenetyki przedstawienie klasyfikacji molekularnej jest dodatkowym źródłem informacji na temat spodziewanego molekularnego statusu nowotworu i dodatkowym podparciem zasadności i potrzeby przeprowadzenia badań. Rozwinięcie informacji na temat klasyfikacji molekularnej z pewnością w znaczący sposób dopełniłoby przedstawioną pracę.

Wspólną cechą rozdziałów dotyczących rozpoznania i leczenia raka jajnika jest rzetelne wymienienie: i) sposobów klasyfikacji typów i stopnia zaawansowania guzów, oraz ii) sposobów kwalifikacji chorych do leczenia. Pozostałe rozdziały omawiają rodzaje badanych i analizowanych transporterów energetycznych z podziałem na transportowane substraty i są skrótem wiadomości szeroko omówionych w pracy przeglądowej (*Baczewska M, Bojczuk K, Kołakowski A, Dobroch J, Guzik P, Knapp P. Obesity and Energy Substrate Transporters in Ovarian Cancer-Review. Molecules. 2021 Mar 16;26(6):1659. doi: 10.3390/molecules26061659*), wchodzącej w skład osiągnięcia opisanego w ramach przedstawionej dysertacji. Uważam, że rozdział *Wstęp* w sposób właściwy przedstawia zagadnienia poruszane w pracy i wystarczająco argumentuje trzy wyznaczone cele opisane w rozdziale *Cel pracy*.

W rozdziale *Materiały i Metody* Doktorantka prezentuje w postaci dwóch rycin dobór grupy badanej i grupy kontrolnej. Szczegółowo opisana jest również analiza ekspresji genów metodą łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. *Real-time PCR*), oraz analiza wyników zdeponowanych w ogólnodostępnych bazach gromadzących dane wielośrodkowych projektów badawczych w ramach biomedycznego projektu mapowania genomu raka (ang. *The Cancer Genom Atlas; TCGA*), a także projektu genotypowania tkanek (ang. *Genotype Tissue Expression Project; GTEx*). Pomimo, iż *Materiały i Metody* zostały szczegółowo opisane w publikacji *Baczewska M, Supruniuk E, Bojczuk K, Guzik P, Milewska P, Konończuk K, Dobroch J, Chabowski A, Knapp P. Energy Substrate Transporters in High-Grade Ovarian Cancer: Gene Expression and Clinical Implications. Int J Mol Sci. 2022 Aug 11;23(16):8968. doi: 10.3390/ijms23168968*, nie mogę znaleźć odpowiedzi na pytanie, czy podczas ustawiania metody *Real-time PCR* wykonano sekwencjonowanie uzyskanych produktów reakcji? Drugie pytanie, które się nasuwa dotyczy braku cytowania pracy

walidującej zastosowanie przez Doktorantkę genu referencyjnego. Czy Badacze wykonali analizę stabilności ekspresji badanego genu w tkance guza w danym doświadczeniu? Na jakiej podstawie dokonano wyboru genu *ACTB1*? Proszę Doktorantkę o odpowiedź na moje pytania i rozwianie moich wątpliwości.

Lek. Marta Baczevska wykonała zaplanowane badania, opisała uzyskane *Wyniki* i przedyskutowała je weryfikując postawioną tezę. Rozprawa została podsumowana sześcioma *Wnioskami*. Należy jednak zwrócić uwagę, że nie były one proste do sformułowania z uwagi na oparcie pracy głównie na badaniach molekularnych ekspresji genów, bez badania ekspresji genów na poziomie białka, a także badań *in vitro* dotyczących ich funkcji. Niejednokrotnie ośmiela to młodych badaczy do formowania zbyt daleko idących wniosków, niekoniecznie potwierdzanych przez badania wykonane w pracy. Pomimo, iż z tym zadaniem Doktorantka poradziła sobie dobrze, chciałbym zasugerować zmodyfikowanie pierwszego wniosku. Brzmi on: „Wzrost ekspresji *FABPpm*, *SNAT1* oraz *GLUT* w HGSOC potwierdza zwiększone zużycie podstawowych substratów energetycznych w komórkach guza”. Moim zdaniem bezpieczniejszym i wynikającym z badań wnioskiem byłoby: „Wzrost ekspresji genów *FABPpm*, *SNAT1* oraz *GLUT* w HGSOC sugeruje, iż istnieje czynnościowa możliwość zwiększenia poboru podstawowych substratów energetycznych przez komórki guza”. We wniosku trzecim, fragment „...dzięki zwiększonej ekspresji *MCT4*, mogą utrzymywać sprzyjające im kwasowe środowisko...”, uzupełniłbym słowem „prawdopodobnie”, przez co nabrałby brzmienia „...prawdopodobnie dzięki zwiększonej ekspresji *MCT4*, mogą utrzymywać sprzyjające im kwasowe środowisko...”. Zaproponowane uwagi nie są zarzutem merytorycznym, a jedynie mają na celu wskazanie drobnych nieścisłości powstałych prawdopodobnie podczas tłumaczenia wniosków pracy. Pozostałe *Wnioski* nie wymagają poprawy, a Doktorantka wykazała się wysoką wiedzą z tego zakresu oraz zdolnością do analizy otrzymanych wyników.

Piśmiennictwo wyszczególnione w rozdziale *Bibliografia*, szczególnie istotne dla omówienia osiągnięcia rozprawy doktorskiej, w większości pochodzi z ostatnich 10 lat i zostało właściwie dobrane. Cytowane artykuły starsze dotyczą zagadnień prezentujących rys historyczny, co uzasadnia ich użycie. Istotną częścią rozprawy było porównanie wyników badań laboratoryjnych oraz danych dostępnych w międzynarodowych bazach danych. Dało to możliwość przeanalizowania znaczenia obserwowanych zmian w dużej grupie badanych. Niewątpliwie, stanowi to bardzo duży walor pracy. Należy dlatego ponownie podkreślić, że rozprawa doktorska Pani lek. Marty Baczevskiej bardzo dobrze wpisuje się w nurt aktualnych i ważnych badań molekularnych genetyki nowotworów.

Nieliczne przedstawione uwagi krytyczne z oczywistych względów wynikają z faktu przygotowania rozprawy doktorskiej na podstawie wcześniej opublikowanych prac, które zostały szczegółowo ocenione i zrecenzowane przez niezależnych ekspertów w trakcie procesu przyjmowania publikacji. Dlatego przedstawione w niniejszej recenzji uwagi krytyczne, w głównej mierze mające charakter marginalny lub polemiczny, w niewielkim jedynie stopniu obniżają bardzo wysoką ogólną ocenę przedstawionej rozprawy. Całość pracy dokumentuje prawidłowe zaprojektowanie i realizację badania, a także nabycie odpowiednich umiejętności do prowadzenia prac badawczych. Na tej podstawie stwierdzam, że przedłożona mi do oceny praca doktorska, Pani lek. Marty Baczewskiej pt. „*Ekspresja transporterów substratów energetycznych u pacjentek z zaawansowanym surowiczym rakiem jajnika*” spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim w myśl artykułu 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. j. Dz.U. z 2023 poz.742).

Mam więc zaszczyt przedłożyć Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku moją pozytywną ocenę rozprawy, wraz z wnioskiem o dopuszczenie Pani lek. Marty Baczewskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

KIEROWNIK
KATEDRY GINEKOLOGII I POŁOŻNICTWA
WYDZIAŁ LEKARSKI / COLLEGIUM MEDICUM
UNIwersytet WARMIŃSKO-MAZURSKI
W OLSZTYNIE

dr hab. n. med. Tomasz Waśniewski, prof. UWM

