

Prof. Piotr Młynarz
Katedra Biochemii,
Biologii Molekularnej i Biotechnologii
Wydział Chemiczny
Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

Wrocław, 30.07.2024 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Mrowiec zatytułowanej: *„Wykorzystanie profilu metabolitów surowicy w ocenie ryzyka zachorowania na raka piersi”*

Niniejsza rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Mrowiec została zrealizowana w Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów im. Profesora Mieczysława Choroążego pod kierunkiem Pana prof. Piotra Widłaka, uznanego autorytetu naukowego z zakresu nauk omicznych.

Pomimo ponad 20-letniego rozwoju nauk omicznych szybka diagnostyka molekularna procesów nowotworowych jest ciągle wyzwaniem dla medycyny i nauk pokrewnych. Jeszcze większym przedsięwzięciem jest opracowanie przesiewowych lub monitorujących metod diagnostycznych, które można byłoby wykorzystać zarówno w badaniach osób z grup wysokiego ryzyka jak i po chemioterapii. Pomimo tak dużego zapotrzebowania oraz wielu zespołów naukowych pracujących nad rozwiązaniem powyższych problemów brakuje badań populacyjnych, które pozwoliłyby na opracowanie modeli predykcyjno-klasyfikacyjnych lub określenie kluczowych biomarkerów, wskazujących na rozwój chorób nowotworowych. Tym bardziej z dużym uznaniem należy podejść do badań podjętych w przedstawionej do recenzji dysertacji doktorskiej, która jest napisana w klasycznym, logicznym stylu pisania prac doktorskich i zawiera „Streszczenie pracy” w języku polskim i angielskim, następnie, „Wstęp”, „Cel pracy”, „Metodykę”, „Wyniki”, „Dyskusję”, „Wnioski” oraz „Bibliografię”.

We wstępie pracy w pierwszym podrozdziale zatytułowanym „Rak piersi (rak gruczołu sutkowego)” Autorka dysertacji wprowadza czytelnika w tematykę dotyczącą procesu patologicznego poprzez opis klasyfikacji raka piersi oraz jego typów histologicznych i molekularnych. Następnie zostały przedstawione główne czynniki ryzyka, sprzyjające rozwojowi tego typu guza oraz jego epidemiologia na tle innych nowotworów. W dalszym ciągu tego podrozdziału został poruszony problem badań przesiewowych oraz markerów molekularnych. W drugim podrozdziale, dotyczącym stricte metabolomiki Pani mgr inż. Katarzyna Mrowiec wychodząc od opisu metabolizmu komórki nowotworowej do metabolitów jako potencjalnych biomarkerów i markerów ryzyka raka piersi wykazała, że bardzo dobrze orientuje się w podjętej, w dysertacji tematyce badawczej. W tej części pracy moją szczególną uwagę przyciągnęła tabela 3, z której wyniki można wykorzystać do badań bioinformatycznych.

Drugi w kolejności rozdział to „Cel pracy”, w którym jak napisała sama Doktorantka punktem ciężkości było scharakteryzowanie sygnatury metabolicznej surowicy krwi związanej z ryzykiem raka piersi. Na ten ogólny cel składały się trzy poddziały: pierwsze analiza profilu metabolitów obecnych w surowicy krwi uczestniczek norweskiego badania populacyjnego HUNT2, u części których zdiagnozowano raka piersi w trakcie obserwacji trwającej od momentu włączenia do badania; drugie porównanie profilu metabolitów obecnych w surowicy kobiet ze zdiagnozowanym nowotworem piersi i kobiet wolnych od choroby nowotworowej; trzecie to porównanie profilu metabolitów obecnych w surowicy kobiet ze zdiagnozowanymi czterema typami nowotworów litych tj. piersi, jelita grubego, regionu głowy i szyi oraz płuca. Ten ostatni z celów w szczególności zwrócił moją uwagę i uważam go za niezwykle cenny.

Trzeci rozdział to „Metodyka”, w którym Doktorantka scharakteryzowała: materiał biologiczny pobrany do badań (łącznie 906 próbek) oraz zastosowaną metodykę pomiarową i obliczeniową. Po przeczytaniu tego fragmentu pracy nie ma wątpliwości, że Autorka dysertacji podjęła trud dopracowania metodyki pomiarów oraz zna słabe strony analiz metabolomicznych z wykorzystaniem metody LC-MS, co opisała w następnym rozdziale.

Główną częścią pracy jest rozdział „Wyniki”. Autorka krok po kroku przedstawia problematykę samych wieloprzepustowych pomiarów oraz ich procesy walidacyjne. W dalszej części systematycznie wykazuje testowanie poszczególnych hipotez badawczych. Po otrzymaniu pierwszych wyników Doktorantka bardzo słusznie zauważyła ich wysokie zróżnicowanie ze względu na różne parametry, z których kluczowym był wiek badanych kobiet. Chociaż należałoby się może zastanowić, dlaczego rozpiętość wiekowa w środkowej grupie była aż tak duża to jest 45-64 lata. Rozumiem, że były to panie najbardziej zróżnicowane ze względu na menopauzę, ale jednak oczywiste zmiany fizjologiczne mogą sprzyjać heterogenności tej grupy. Otrzymane, ciekawe wyniki analiz zmian w metabolomie kobiet wraz z wiekiem pomagają nie tylko w zrozumieniu procesów nowotworzenia, ale są bardzo istotne ze względu na różne mechanizmy molekularne związane ze starzeniem się organizmu. Za ważny aspekt wykonanych analiz uważam wykrycie systematycznych zmian związanych z wiekiem oraz ryzykiem zachorowania na raka piersi w szlaku biosyntezy argininy poprzez obserwację zmian, w stężeniu citruliny w szczególności dla grupy kobiet powyżej 64 roku życia. I w tym przypadku jak wynika z rysunku 23 na stronie 65 stężenie tego aminokwasu jest niższe u kobiet z HR w stosunku do LR względem tej samej grupy wiekowej, czyli jest odwrotnie niż w opisie zamieszczonym w tekście (podobnie jak opis dla kwasu glutaminowego). W dalszych badaniach została zanalizowana grupa kobiet wysokiego ryzyka, która została podzielona ze względu na czas diagnozy procesu nowotworowego - na wczesną oraz późną. Ten podział umożliwił wykrycie dalszych zmian w puli metabolitów, w wybranych grupach. Wszystkie te porównania pokazują jak duża jest różnorodność w obrębie jednej populacji kobiet z grupy wysokiego ryzyka i jak trudne jest opracowanie niezawodnych modeli, które mogłyby być wykorzystane do badań skryningowych kobiet z tej grupy, jeśli w ogóle jest to możliwe.

W dalszym ciągu opisu wyników zostały przedstawione badania dotyczące porównania metabolomów kobiet cierpiących na raka piersi do grup kontrolnych pań „wolnych”

od nowotworu. W wyniku przeprowadzonej analizy zaobserwowano średnią lub dużą wielkość efektu dla 60 metabolitów, z których 49 (16 aminokwasów, 1 amina bigenna, 9 DG, 8 TG, 12 LPC, 2 PC) charakteryzowało się obniżonym poziomem dla kobiet z grupy BC a 11 podwyższonym (9 AC, 1 amina i heksoza). Bardzo dobrym porównaniem są zagregowane stężenia głównych klas związków lipidowych, które wykazały spadek poziomów lizofosfatydylocholin oraz di- i triglicerydów u pacjentek z rakiem piersi, co może razem stanowić pewien wskaźnik diagnostyczny.

Ostatnie badania przeprowadzone w pracy dotyczyły identyfikacji metabolitów surowicy krwi pacjentek cierpiących na różne nowotwory łe w tym raka piersi, jelita grubego, regionu głowy i szyi oraz płuc. Jak już napisałem wcześniej był to bardzo dobry pomysł, który mógł pozwolić na wyodrębnienie ogólnej sygnatury metabolicznej procesów nowotworzenia wraz z charakterystycznym profilem molekularnym poszczególnych ich typów. Jak wynika z przeprowadzonych badań spośród wszystkich zanalizowanych metabolitów zostało znalezionych 29 (11 aminokwasów, 1 acylokarnityna, 4 di- i triglicerydy, 13 lizofosfatydylocholin), które rozróżniały każdy rodzaj nowotworu od grupy kontrolnej, z których 28 miało niższy poziom niż grupa kontrolna, a tylko 1 był podwyższony AC (14:1). Wyniki klasteryzacji hierarchicznej wykazały, że najbardziej podobne pod względem molekularnym są rak płuc oraz rak głowy i szyi. Natomiast rak jelita grubego jest najbardziej molekularnie zróżnicowany spośród badanych przypadków względem raka płuc, chociaż najbliższej tej jednostce patologicznej jest do grupy kontrolnej.

Przechodząc płynnie do dyskusji wyników, składającej się głównie z podsumowania otrzymanych rezultatów i ich omówienia w świetle doniesień literaturowych, pozwolę sobie na pewną dygresję. Spoglądając na wyniki prac metabolomicznych powstają zawsze pytania, czy spadek jakiegoś metabolitu w stosunku do grupy kontrolnej jest przyczyną czy skutkiem występowania stanu patologicznego w organizmie. W tym miejscu chciałbym poznać zdanie Doktorantki na ten temat. Ponadto chciałbym, aby Pani Katarzyna odniosła się do opisanego w dyskusji wyników obniżonego stężenia aminokwasów i sugestii w niej zawartej, że podwyższone aminokwasy mogą przygotowywać przez wiele lat środowisko pod przyszły proces nowotworzenia. Czy w takim razie promowana obecnie dieta wysokobiałkowa może przyczynić się za parę lat do wzrostu zachorowań nowotworowych?

Podsumowując Pani mgr inż. Katarzyna Mrowiec zrealizowała założone cele rozprawy doktorskiej opanowując doskonale warsztat wysokoprzepustowych pomiarów metabolomicznych za pomocą metody LC-MS.

Niestety w dysertacji doktorskiej nie doszukałem się całościowego dorobku naukowego mgr inż. Katarzyny Mrowiec, ale wg. bazy SCOPUS jest współautorką 12 publikacji w tym dwóch, w których zostały opisane wyniki dysertacji. Publikacje te były już cytowane 84 razy, a współczynnik Hirscha Doktorantki na dzień sporządzania recenzji wynosił 5. Wszystkie powyżej wymienione parametry stanowią często odzwierciedlenie nakładu pracy podczas wykonywania prac badawczych w czasie kształcenia doktorantów, w szkołach doktorskich i w tym przypadku uważam je za bardzo wysokie jak na ten etap kariery naukowej.

Jak zwykle na sam koniec recenzji powinienem dodać, że nie mam w zwyczaju wskazywania w pracy ani na błędy językowe, ani na niedociągnięcia edytorskie, ponieważ nie wpływają one na jej merytoryczną zawartość.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Mrowiec spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określonym w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (aktualne odniesienie do ustawy - tekst jednolity: Dz. U. z 2023 r. poz. 742) i wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na unikatowe wieloprzepustowe badania, jakie zostały podjęte w tej dysertacji oraz ich wysoki poziom wnioskuję do Rady Naukowej o jej wyróżnienie.

Piotr Młynarz