



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku

Zakład Histologii i Cytofizjologii

15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2C

Tel. (85) 748-54-58

Prof. dr hab. n. med. Irena Kasacka

Kochanek
późny
i
długość

Białystok, 2025.01.15

Z-ca Przewodniczącej
Rady Dyscypliny Nauki Medyczne

prof. dr hab. Tomasz Grzybowski

OCENA

Rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Buchholz pt. „**Ekspresja wybranych czynników związanych z niestabilnością genomową w gruczolakoraku przewodowym trzustki: ocena wartości prognostycznej oraz wpływu na chemiooporność komórek nowotworowych**”

Promotor: prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Dariusz Grzanka

Promotor pomocniczy: Dr n. med. Anna Klimaszewska - Wiśniewska

Recenzja została sporządzona w odpowiedzi na pismo dr hab. Iwony Sadowskiej-Krawczyńskiej, prof. Uczelni, Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z dnia 20.11.2024 r.

Ogólna charakterystyka dysertacji

Rozprawa doktorska mgr Karoliny Buchholz pt. „Ekspresja wybranych czynników związanych z niestabilnością genomową w gruczolakoraku przewodowym trzustki: ocena wartości prognostycznej oraz wpływu na chemiooporność komórek nowotworowych” została przygotowana w formie hybrydowej i jest zbiorem dwóch spójnych tematycznie artykułów naukowych, a także niepublikowanych dotychczas wyników badań będących kontynuacją problemu badawczego. Oceniana dysertacja obejmuje 36 stron opisu badań, dwa załączniki z kserokopiami prac włączonych do cyklu, 8 stosownych oświadczeń pozostałych współautorów o ich udziale w powstawaniu ww. artykułów, wskazujące na istotną lub wiodącą rolę Doktorantki w realizowanym projekcie badawczym, opracowaniu uzyskanych wyników oraz w przygotowaniu prac do druku i zgody Komisji Bioetycznej na

przeprowadzenie doświadczeń. Integralną częścią opracowania jest Streszczenie w języku polskim i angielskim. Bibliografia rozprawy obejmuje **70 pozycji dobrze dobranego i aktualnego piśmiennictwa**.

Publikacje, prezentujące wyniki przeprowadzonych badań, włączone do cyklu, stanowią następujące prace:

1. Anna Klimaszewska-Wiśniewska*, **Karolina Buchholz***, Izabela Neska-Długosz, Justyna Durślewicz, Dariusz Grzanka, Jan Zabrzyński, Paulina Sopońska, Alina Grzanka, Maciej Gagat. Expression of genomic instability-related molecules: Cyclin F, RRM2 and SPDL1 and their prognostic significance in pancreatic adenocarcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(4):859. IF: 6.575, MNiSW: 140
2. Karolina Buchholz, Justyna Durślewicz, Anna Klimaszewska-Wiśniewska, Magdalena Wiśniewska, Maciej Słupski, Dariusz Grzanka. SKA3 expression as a prognostic factor for patients with pancreatic adenocarcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(10):5134. IF: 5.600, Punktacja MNiSW: 140.

W obu artykułach Karolina Buchholz występuje jako pierwsza autorka. Czasopisma naukowe, w których zostały opublikowane wyniki badań są wysoko notowanymi periodykami. Sumaryczna wartość współczynnika oddziaływania IF tych publikacji wynosi 12,175, a według punktacji MNiSW wynosi 280. Świadczy to o bardzo wysokim poziomie opublikowanych prac włączonych do cyklu recenzowanej rozprawy doktorskiej. Z oświadczeń współautorów wynika, że wkład Doktorantki w powstanie tych manuskryptów był znaczący. Tematyka tych publikacji ściśle wiąże się z tematem rozprawy i wpisuje się w prowadzone obecnie, w wielu ośrodkach na świecie badania nad poszukiwaniem nowych technik molekularnych i nowych biomarkerów w celu poznania i zrozumienia podstaw genetycznych transformacji nowotworowej i wykorzystania ich w diagnostyce i leczeniu nowotworów.

Ponadto w dorobku naukowym pani mgr Karoliny Buchholz znajduje się 12 publikacji oryginalnych, o łącznym IF 48,660 i 920 punktów MNiSW, 3 artykuły przeglądowe (IF=2,827 i 90 punktów MNiSW) oraz 38 doniesień zjazdowych.

Ocena problematyki badawczej

Przedmiotem przedstawionej do recenzji Rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Buchholz była wnikliwa ocena, na poziomie białka i mRNA, wartości prognostycznej czterech wybranych białek (cykliny F, RRM2, SPDL1 i SKA3) związanych z utrzymaniem stabilności genomu.

Pomimo ogromnego postępu w badaniach w ostatnich dekadach, niektóre nowotwory pozostają uporczywie śmiertelne. Jednym z nich jest rak trzustki. Najczęstszą postacią choroby jest gruczolakorak przewodowy trzustki (PDAC). Jeśli choroba nie jest leczona, szybko rozprzestrzenia się na pobliskie narządy i naczynia krwionośne. Gruczolakorak przewodowy trzustki wciąż jest trudny do wykrycia we wczesnym stadium i ma pięcioletni wskaźnik przeżycia wynoszący mniej niż 5%. Dlatego poszukiwanie nowych technik wykrywania PDAC, przed pojawieniem się jakichkolwiek oznak klinicznych choroby jest niewątpliwie bardzo ważnym wyzwaniem. Odkrycie nowych biomarkerów w sposób znaczący może przyczynić się do wcześniejszego wykrywania, badania progresji, określenia typu nowotworu oraz doboru odpowiedniego leczenia. Badania ostatnich lat wykazały obiecujący potencjał peptydów w leczeniu różnych nowotworów. Jednak nadal istnieją duże wyzwania do pokonania potencjalnego wykorzystania funkcjonalnych peptydów w diagnostyce i leczeniu raka trzustki. Problematyka badawcza Autorki ocenianej dysertacji doskonale wpisuje się w ten atrakcyjny obszar badań i rozwoju, które mogą ostatecznie dać nadzieję pacjentom z rakiem trzustki. Stąd też uważam, że tematyka recenzowanej dysertacji jest aktualna, jednocześnie konstytuuje istotny problem nie tylko naukowy ale również aplikacyjny w diagnostyce i terapii nowotworów.

Jedną z charakterystycznych cech komórek nowotworowych jest niestabilność genetyczna, która może występować jako zmiany: cytogenetyczne (niestabilność chromosomalna), molekularne i epigenetyczne. Pani mgr Karolina Buchholz w badaniach włączonych do pracy doktorskiej wytypowała cztery białka (cyklina F, RRM2, SPDL1, SKA3) związane z utrzymaniem stabilności genomu u pacjentów z gruczolakorakiem przewodowym trzustki.

Charakterystyka pracy

Rozprawa doktorska mgr Karoliny Buchholzy zawarta jest na 106 stronach i składa się z 15 rozdziałów, włączając część zasadniczą, jak i dołączone kopie publikacji będące przedmiotem dysertacji oraz załączniki: oświadczenia o współautorstwie i zgody Komisji Bioetycznych na przeprowadzenie badań (13, 14 i 15 rozdział).

W ogólnym ujęciu, praca doktorska ma klarowny, logiczny układ – podział i kolejność prezentowanych treści są właściwe. W części wstępnej poza notą informacyjną, listą publikacji wchodzących w skład cyklu i wykazem skrótów znajduje się teoretyczne wprowadzenie na temat raka trzustki, dotychczasowych metod leczenia i śmiertelności. Odwołując się do doniesień literaturowych Autorka wskazuje istotność problemu badawczego w kontekście niestabilności genomowej i poszukiwania nowych biomarkerów oraz potencjalnych celów terapeutycznych raka trzustki. Wstęp kończy opis wybranych białek zaangażowanych

w utrzymanie stabilności genomu. Ta część wprowadzenia rozprawy ściśle nawiązuje do tytułu dysertacji. W pracy sformułowano 6 szczegółowych celów.

Ważnym elementem każdego opracowania naukowego jest dokładny opis zastosowanych metod, umożliwiający replikowalność ich zastosowania. W ocenianej pracy opis metod i technik jest dokładnie przedstawiony na 8 stronach tekstu. Jednak, aby możliwa była odtwarzalność metody należało podać **numery katalogowe użytych odczynników**.

Wyniki niepublikowane włączone do rozprawy doktorskiej Autorka szczegółowo opisuje i prezentuje na czytelnych wykresach i dobrej jakości mikrofotografiach. W rozdziale 8 Doktorantka omawia uzyskane wyniki własnych badań i konfrontuje je z doniesieniami najnowszego piśmiennictwa. Autorka wykazuje się umiejętnościami analizy danych, ich interpretacji i nawiązania do literatury przedmiotu. Na szczególne podkreślenie zasługuje świadomość Doktorantki i ujawnienie ograniczeń własnych badań naukowych, które mogły mieć wpływ na osiągnięte rezultaty. Wskazuje to na uczciwość i rzetelność interpretacji badań.

Recenzent ma obowiązek oceny teoretycznej w zakresie realizacji rozprawy doktorskiej (Artykuł 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r.). Można to zweryfikować liczbą i rodzajem źródeł bibliograficznych, wykorzystanych w pracy. Doktorantka wykorzystwała łącznie 70 pozycji piśmiennictwa z czego 50 pozycji z ostatnich 10 lat, w tym 10 pozycji z roku 2024. Podczas dyskusji uzyskanych wyników Doktorantka przywoływała rezultaty badań autorów licznych ośrodków polskich i zagranicznych. Sposób cytowania źródeł jest poprawny.

Reasumując, bibliografia wykorzystana w rozprawie oraz odpowiednio przeprowadzona dyskusja uzyskanych wyników badań wskazują jednoznacznie, że Doktorantka posiadała odpowiednią i wystarczającą wiedzę teoretyczną w badanej dyscyplinie.

Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia badań oraz metod badawczych

Przedstawiony w rozprawie szeroki zakres badań oraz metody ich realizacji pokazują, że Doktorantka potrafiła opracować szczegółowy oraz logiczny plan pracy. Poszczególne etapy badań i kolejność ich wykonywania była adekwatna do realizacji celów rozprawy. W pierwszym etapie badań przeanalizowano związek pomiędzy ekspresją cykliny F, RRM2 i SPDL1 a wybranymi cechami kliniczno-patologicznymi i rokowaniem pacjentów z gruczorakorakiem trzustki oraz analizowano powiązania kliniczno-patologiczne i wartości prognostyczne SKA3 (białka i mRNA). Wyniki tego etapu, opublikowanych badań wskazują na potencjalne wykorzystanie badanych białek, szczególnie w kombinacji trzech jako biomarkerów w prognostyce klinicznej pacjentów z nowotworem trzustki. W podsumowaniu drugiej pracy podkreślono, że nadekspresja mRNA SKA3 stanowi niekorzystny czynnik

prognostyczny dla całkowitego czasu przeżycia pacjentów, podczas gdy podwyższony poziom białka jest istotnie powiązany z lepszymi rokowaniami klinicznymi. Wyniki tego etapu badań stworzyły podstawę do przeprowadzenia szeregu szczegółowych badań *in vitro*, które pozwoliły na realizację zaplanowanych celów rozprawy doktorskiej. Wykazanie różnic ekspresji czterech białek związanych z utrzymaniem stabilności genomu i określenie zależności ww. czynników z wybranymi cechami kliniczno-patologicznymi pacjentów z gruczolakorakiem trzustki może przybliżyć identyfikację właściwych biomarkerów tego nowotworu.

Rozprawę kończy 6 wniosków, które stanowią podsumowanie uzyskanych oraz przeanalizowanych wyników przeprowadzonego procesu badawczego.

Uwagi edycyjne

W treści recenzowanej rozprawy doktorskiej zauważono sporadyczne potknięcia językowe, edycyjne, formalne i nomenklaturowe, które są nieuniknione w rozwijającym się warsztacie pisarskim młodego naukowca. Niedociągnięcia te nie mają istotnego wpływu na końcową ocenę rozprawy doktorskiej.

Strona 8. Wykaz skrótów:

- nie wszystkie skróty mają polskie tłumaczenie (CCK-8, DMEM, GLOBOCAN, TPD1, itd.)
- CCDC99-to jest to samo co SPDL1

Strona 13

- proszę o wyjaśnienie, co znaczy „wierność mitotyczna”

Strona 15

- niezręczność stylistyczna „Uważa się, że z uwagi na ...”

Strona 27 Podrozdział 7.1.9

- brak indeksu górnego (jest 1×10^6 powinno być 1×10^6)

Strona 48 Wnioski

- 1 wniosek jest mało zrozumiały „Ocena immunoekspresji SPDL1, ale nie cykliny F i RRM2,...)

Proszę sprawdzić cały tekst pod względem interpunkcji i odstępów między wierszami i wyrazami.

Podsumowanie recenzji i wniosek końcowy

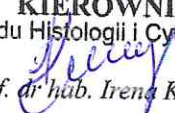
Reasumując stwierdzam, że cel pracy został w pełni zrealizowany, a uzyskane wyniki są oryginalnym osiągnięciem Doktorantki, która dobrze opanowała niełatwy warsztat

badawczy i umiejętność samodzielnego prowadzenia prac badawczych. Potwierdziła również dobre przygotowanie merytoryczne. Uważam, że praca stanowi znaczący dorobek z elementami nowości naukowych i w pełni odpowiada wymaganiom do nadania stopnia doktora nauk medycznych w dyscyplinie nauki medyczne, zawartym w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 poz. 742), wnioskuję do Wysokiego Senatu Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy o nadanie mgr Karolinie Buchholz stopnia doktora nauk medycznych.

W oparciu o analizę przedłożonej Rozprawy doktorskiej mogę stwierdzić, że Pani mgr Karolina Buchholz wykazała się zaangażowaniem i dojrzałością naukową. Jednocześnie, biorąc pod uwagę jakość, zakres i ważność przeprowadzonych badań oraz sposób ich częściowego upowszechnienia poprzez opublikowanie w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Buchholz.

Biorąc pod uwagę aktualność i znaczenie tematyki rozprawy, sformułowane cele, spójność wywodu, wykorzystane narzędzia badawcze, walory poznawcze, a przede wszystkim walory aplikacyjne wyników przeprowadzonych badań stwierdzam, że rozprawa doktorska Karoliny Buchholz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego z dyscypliny nauki medyczne. Rozprawa doktorska potwierdza wysoki poziom wiedzy teoretycznej, dobre opanowanie niełatwego warsztatu badawczego i umiejętność samodzielnego prowadzenia prac badawczych.

Prof. dr hab. Irena Kasacka

KIEROWNIK
Zakładu Histologii i Cytofizjologii

prof. dr hab. Irena Kasacka