

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Piotra Baszuka
pt.: „Miedź i arsen jako markery występowania raka jelita grubego”,
w związku z powierzeniem obowiązku recenzenta przez Radę Naukową Dyscypliny Nauki
Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Rozprawa doktorska mgr. Piotra Baszuka powstała w Zakładzie Genetyki i Patomorfologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie pod kierunkiem dr hab. n. med. Marcina Lenera. Rozprawę stanowi cykl obejmujący dwie publikacje przedstawiony w formie zalecanej dla prac promocyjnych i obejmuje łącznie z oświadczeniami 119 stron.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy:

- 1) **Baszuk P**, Marciniak W, Derkacz R, Jakubowska A, Cybulski C, Gronwald J, Dębniak T, Huzarski T, Białkowska K, Pietrzak S, Muszyńska M, Kładny J, Narod SA, Lubiński J, Lener MR. *Blood Copper Levels and the Occurrence of Colorectal Cancer in Poland. Biomedicines*. 2021; 9(11): 1628. 100 pkt. ministerialnych, IF 4,757.
- 2) **Baszuk P**, Stadnik P, Marciniak W, Derkacz R, Jakubowska A, Cybulski C, Huzarski T, Gronwald J, Dębniak T, Białkowska K, Pietrzak S, Kładny J, Scott RJ, Lubiński J, Lener MR. *Low Blood-As Levels and Selected Genotypes Appears to Be Promising Biomarkers for Occurrence of Colorectal Cancer in Women. Biomedicines*. 2021; 9(9): 1105. 100 pkt. ministerialnych, IF 4,757.

Doktorant, mgr Piotr Baszuk jest pierwszym autorem obydwu prac, łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 9,514, a liczba punktów ministerialnych 200, co jest dużym osiągnięciem. Recenzent uznaje niniejszą rozprawę jako bardzo dobrą, stanowiącą kontynuację tematyki realizowanej przez Autora w zespole, który od wielu lat zajmuje się badaniem wpływu arsenu i metali ciężkich na występowanie nowotworów.

Problematyka przedstawiana przez mgr. Piotra Baszuka jest mi znana, ponieważ byłem recenzentem wysokonakładowego projektu „Test genetyczny wysokiego ryzyka raków oparty o ocenę we krwi/surowicy stężeń wybranych metali - Cd, Ni, Cr, Pb, Hg oraz genów enzymów je metabolizujących” PBS3/B7/26/2015, w którym promotor niniejszej rozprawy - dr hab. Marcin Lener prowadził analizy pierwiastków. Ponadto miałem przyjemność być recenzentem przygotowanej pod kierunkiem dr hab. Marcina Lenera rozprawy doktorskiej mgr. Sandry Pietrzak pt.: „Stężenie selenu i wybranych metali ciężkich w organizmie jako markery prognostyczne przeżyć pacjentów z rakiem płuca”. Również tematyka nowotworów, a w szczególności raka jelita grubego jest mi bardzo bliska. Rozprawa oparta jest na wynikach uzyskanych podczas realizacji powyższego projektu.

W artykule dotyczącym oceny zależności poziomu miedzi we krwi a występowaniem raka jelita grubego w Polsce, Doktorant wskazał na zapotrzebowanie na czułe i specyficzne biomarkery do wczesnego wykrywania raka jelita grubego. W retrospektywnym badaniu określał, czy wysoki poziom miedzi we krwi był związany z występowaniem raka jelita grubego. Poziom miedzi we krwi przebadano u 187 pacjentów z rakiem jelita grubego i 187 osób z grupy kontrolnej. Przypadki i kontrole dopasowano pod względem płci, statusu palenia (tak/nie) i roku urodzenia. W grupie badanej średni poziom miedzi we krwi wynosił 1031 $\mu\text{g/l}$ (zakres 657-2043 $\mu\text{g/l}$), a grupie kontrolnej średni poziom miedzi we krwi wynosił 864 $\mu\text{g/l}$ (zakres 589-1433 $\mu\text{g/L}$). Iloraz szans wystąpienia raka jelita grubego dla osób z najwyższym kwartylem poziomu miedzi (w porównaniu z najniższym) wyniósł 12,7 (95% CI: 4,98-32,3; $p < 0,001$). Spośród pacjentów z rakiem okrężnicy w stadium I-II, 62% miało poziom miedzi w najwyższym kwartylu. Wskazano, że poziom miedzi we krwi powyżej 930 $\mu\text{g/L}$ wiąże się ze wzrostem zachorowalności na raka jelita grubego w polskiej populacji i należy rozważyć jego potencjalne zastosowanie w programach wczesnego wykrywania. Artykuł był recenzowany przez wydawnictwo i w mojej ocenie uważam pracę za bardzo wartościową (*Biomedicines*. 2021; 9(11): 1628. 100 pkt. ministerialnych, IF 4,757).

W drugim artykule mgr Piotr Baszuk zajął się oceną poziomu arsenu we krwi i wybranych genotypów jako potencjalnych biomarkerów występowania raka jelita grubego u kobiet. Określono, czy poziom arsenu (As) we krwi w połączeniu ze specyficznymi polimorfizmami w 10 genach: metalotioneiny 1B *MT1B*, S-transferazy glutationowej P1 *GSTP1*, członka 1 podrodziny B kasety wiążącej ATP (ang. *ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1*) *ABCB1*, dehydrogenazy 1 NAD(P)H chinonowej 1 *NQO1*, koaktywatora 3 transkrypcji regulowanej przez CREB (ang. *CREB regulated transcription coactivator 3*) *CRTC3*, peroksydazy 1 glutationu *GPX1*, dysmutazy ponadtlenkowej 2 *SOD2*, katalazy *CAT*, białko 1 uzupełniającego krzyżowo do naprawy uszkodzeń wywołanych promieniami rentgena (ang. *X-ray repair cross-complementing protein 1*) *XRCC1*, naprawa przez wycięcie komplementarnej grupy niedoboru naprawy u gryzoni 2 (ang. *excision repair cross-complementing rodent repair deficiency group 2*) *ERCC2* mogą być stosowane jako marker do wykrywania raka jelita grubego wśród Polek. Do badań wybrano geny, które są bezpośrednio zaangażowane w transformację nowotworową, metabolizm ksenobiotyków jak i stres oksydacyjny. Retrospektywne badanie kliniczno-kontrolne obejmowało 83 przypadki raka jelita grubego i 78 zdrowych osób z grupy kontrolnej. Od każdego uczestnika badania pobrano krew obwodową przed leczeniem w celu pomiaru poziomu arsenu As za pomocą spektrometrii mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS). Oszacowano iloraz szans

(OR) związku między poziomami arsenu As we krwi a rakiem jelita grubego za pomocą wieloczynnikowego modelu bezwarunkowej regresji logistycznej. Niski poziom arsenu we krwi (0,27-0,67 $\mu\text{g/l}$) był związany ze zwiększoną częstością raka jelita grubego (OR: 3,69; $p = 0,005$). Korelacja ta była znacznie większa, gdy uczestnicy byli nosicielami określonych wariantów genów: *CAT*, rs1001179-nonCC (OR: 19,4; $p = 0,001$); *ABCB1* rs2032582-CC (OR: 14,8; $p = 0,024$); *GPXI* rs1050450-CC (OR: 11,6; $p = 0,002$) i *CRTC3* rs12915189-nonGG (OR: 10,3; $p = 0,003$). Przedstawione badanie dostarcza mocnych dowodów na to, że niski poziom arsenu we krwi jest istotnie związany ze zwiększonym ryzykiem występowaniem raka jelita grubego i że poszczególne warianty genów znacząco wzmacniają tę korelację. Ze względu na nowość tych odkryć Doktorant sugeruje dalszą walidację przed ostatecznym stwierdzeniem, że łączny efekt niskiego poziomu arsenu we krwi z określonymi polimorfizmami genów jest odpowiednim biomarkerem raka jelita grubego. Druga publikacja ukazała się również w czasopiśmie *Biomedicines*, w wydaniu sierpniowym (*Biomedicines*. 2021; 9(9): 1105. 100 pkt. ministerialnych, IF 4,757).

Rozprawa doktorska zawiera główne elementy wchodzące w skład typowej pracy promocyjnej i obejmuje: spis treści, wykaz stosowanych skrótów, notę informacyjną, wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, wnioski, publikacje będące podstawą rozprawy, suplement, streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo oraz oświadczenia współautorów publikacji. Jest to układ wystarczający do przygotowania recenzji rozprawy.

Cel rozprawy doktorskiej został przedstawiony bardzo zwięźle w formie zapytania czy stężenie arsenu albo miedzi we krwi osobno lub w połączeniu z określonymi polimorfizmami genów może być wykorzystane jako marker występowania raka jelita grubego? Cel rozprawy jest bardzo ambitny. Doktorant mgr Piotr Baszuk praktycznie we wszystkich częściach rozprawy wspiera się danymi zawartymi w publikacjach będących podstawą rozprawy.

Mgr Piotr Baszuk przedstawił 5 wniosków, wskazując, że (1) niższy poziom arsenu we krwi (poniżej 0,67 $\mu\text{g/L}$) może być związany ze wzrostem częstości występowania raka jelita grubego u kobiet podobnie jak (2) wyższe stężenie miedzi (powyżej 900 $\mu\text{g/L}$) niezależnie od płci. Doktorant wskazuje, że (3) oznaczenie stężeń arsenu i miedzi we krwi może stanowić marker selekcji pacjentów do dalszej diagnostyki raka jelita grubego. Zdaniem recenzenta, ten wniosek można połączyć z poprzednimi, zwłaszcza że nie wnosi nic nowego. Kolejny wniosek (4) odnosi się do efektu wyboru kobiet do diagnostyki raka jelita grubego na podstawie oceny stężenia arsenu we krwi, który może być zwiększony w podgrupach nosicielek polimorfizmów genów: *CAT* rs1001179-nonCC, *ABCB1* rs2032582-CC, *GPXI* rs1050450-CC, *CRTC3* rs12915189-nonGG. Ponadto (5) efekt selekcji osób (niezależnie od płci) do diagnostyki raka

jelita grubego na podstawie oceny stężenia miedzi we krwi może być zwiększony w podgrupach nosicieli polimorfizmów genów: *ABCB1* rs2032582-nonCC, *MT1B* rs7191779-nonGG, *CAT* rs1001179-CC, *SOD2* rs4880-nonGG, *GSTP1* rs1695-nonAA oraz *XRCC1*-rs1799782-CC. Bardzo ciekawe są wnioski 4 i 5, chociaż ich forma przedstawienia mogłaby być lepsza. Wnioski są zgodne z celem rozprawy.

Na uwagę z pewnością zasługuje rozszerzenie badań molekularnych wybranych polimorfizmów genów w odniesieniu do zawartości miedzi we krwi (dane nieopublikowane), tym niemniej recenzentowi zabrakło części poświęconej dyskusji, szczególnie w odniesieniu do przeprowadzenia badań molekularnych w porównaniu ze stężeniem miedzi jak i arsenu we krwi. To niedopatrzenie może być związane z ujęciem dyskusji w ramach opublikowanych artykułów, ale z pewnością wzbogaciłaby prezentowaną do oceny rozprawę. Doktorant do badań zastosował samodzielnie opracowany program do oceny statystycznej. Bardzo drobnych błędów edytorskich nie wymieniam, ponieważ jest ich niewiele i nie wpływają na wartość rozprawy, wspominam o nich jedynie z obowiązku recenzenta.

Wniosek końcowy. Zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne mgr. Piotrowi Baszukowi. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

Ze względu na opracowanie bardzo szerokiej problematyki związanej z określaniem stężeń arsenu i miedzi u pacjentów z rakiem jelita grubego, wraz ze zwróceniem uwagi na możliwość ich wykorzystania jako potencjalnych biomarkerów, zgłaszam wniosek o wyróżnienie rozprawy *summa cum laude*. Rozprawa spełnia kryteria regulaminowe, opublikowanie wyników rozprawy w czasopismach z IF o szerokim międzynarodowym zasięgu: 1) Baszuk P, Marciniak W, Derkacz R, Jakubowska A, Cybulski C, Gronwald J, Dębniak T, Huzarski T, Białkowska K, Pietrzak S, Muszyńska M, Kładny J, Narod SA, Lubiński J, Lener MR. *Blood Copper Levels and the Occurrence of Colorectal Cancer in Poland. Biomedicines*. 2021; 9(11): 1628. 100 pkt. ministerialnych, IF 4,757. 2) Baszuk P, Stadnik P, Marciniak W, Derkacz R, Jakubowska A, Cybulski C, Huzarski T, Gronwald J, Dębniak T, Białkowska K, Pietrzak S, Kładny J, Scott RJ, Lubiński J, Lener MR. *Low Blood-As Levels and Selected Genotypes Appears to Be Promising Biomarkers for Occurrence of Colorectal Cancer in Women. Biomedicines*. 2021; 9(9): 1105. 100 pkt. ministerialnych, IF 4,757. Pan mgr Piotr Baszuk jest pierwszym autorem obydwu prac, łączny współczynnik

oddziaływania IF wynosi 9,514, a liczba punktów ministerialnych 200, co uważam za duże osiągnięcie uzasadniające wniosek o wyróżnienie rozprawy *summa cum laude*.



Prof. dr hab. n. med. Ryszard Słomski

Poznań, 9.12.2022 r.

