



INSTYTUT
GENETYKI CZŁOWIEKA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Poznań, 20.01.2023 r.

ul. Strzeszyńska 32
60-479 Poznań
tel. +48/61/657 91 00
e-mail: igcz@man.poznan.pl
www.igcz.poznan.pl

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Pławski

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr. Piotr Baszuka pt. „Miedź i arsen jako markery występowania raka jelita grubego” w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauki medyczne i nauki o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne. Poniższa recenzja została przygotowana na podstawie decyzji Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, która na posiedzeniu w dniu 25.10.2022 r. powołała mnie na recenzenta wyżej wymienionej dysertacji.

Ocena formalna

Rozprawa doktorska Pana mgr. Piotr Baszuka pt. „Miedź i arsen jako markery występowania raka jelita grubego” została wykonana w Zakładzie Genetyki i Patomorfologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem dr hab. n. med. Marcina Lenerta. Rozprawa liczy 113 stron w druku jednostronnym, gdzie w poszczególnych rozdziałach zamieszczono: wykaz skrótów, wstęp, cel pracy, materiały i metody (gdzie zamieszczono teksty publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej i opisem uzyskanych w nich wyników), podsumowanie wyników, wnioski, streszczenie, streszczenie w języku angielskim, piśmiennictwo. Dodatkowo doktorant umieścił notę informacyjną, z której dowiadujemy się jakie prace są podstawą rozprawy oraz o źródłach finansowania badań. Załączono również zgody oświadczenia współautorów prac na temat udziału poszczególnych współautorów oraz zgody na użycie tych publikacji do rozprawy. Układ pracy ma typowy układ dla tego typu prac promocyjnych i w tym zakresie nie mam zastrzeżeń.

Publikacje będące podstawą rozprawy to:

1. Piotr Baszuk, Paulina Stadnik, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Anna Jakubowska, Cezary Cybulski, Tomasz Huzarski, Jacek Gronwald, Tadeusz Dębniak, Katarzyna Białkowska, Sandra Pietrzak, Józef Kładny,

Rodney J. Scott, Jan Lubiński, Marcin R. Lener. „Low blood–As levels and selected genotypes appears to be promising biomarkers for occurrence of colorectal cancer in women.” *Biomedicines*. 2021; 9(9):1105. doi: 10.3390/biomedicines9091105 IF: 6,081. MNiSW: 100.

2. Piotr Baszuk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Anna Jakubowska, Cezary Cybulski, Jacek Gronwald, Tadeusz Dębniak, Tomasz Huzarski, Katarzyna Białkowska, Sandra Pietrzak, Magdalena Muszyńska, Józef Kładny, Steven A. Narod, Jan Lubiński, Marcin R. Lener. “Blood copper levels and the occurrence of colorectal cancer in Poland.” *Biomedicines*. 2021; 9(11):1628. doi: 10.3390/biomedicines9111628 IF: 6,081. MNiSW: 100.

Rozprawa została przygotowana na podstawie dwóch publikacji oryginalnych, które w manuskrypcie podsumowano i omówiono rezultaty uzyskane w ich ramach. Taki układ pracy oceniam bardzo pozytywnie, uzyskane wyniki były już wcześniej recenzowane przez specjalistów w dziedzinie i ocenione, a ranga czasopisma świadczy o doniosłości uzyskanych wyników. W przedstawionych do rozprawy publikacjach doktorant jest pierwszym autorem, a promotor w obu publikacjach jest ostatnim autorem. Taki układ współautorstwa wskazuje na istotne role tych dwóch osób w prezentowanych pracach.

Ocena merytoryczna

Rak jelita jest istotnym problemem społecznym i medycznym, ponieważ jest jednym z najczęstszych nowotworów, a także jednym z powodujących największą liczbę zgonów. Problem ten jest w równym stopniu obserwowany na świecie, zwłaszcza w krajach rozwiniętych, jak i Polsce. Inwazyjne metody badania jelita grubego wg ostatnich doniesień mogą zwiększać ryzyko wystąpienia nowotworu jelita. Obecnie stosowane nieinwazyjne metody wykrywania mogłyby zostać udoskonalone. Skuteczność leczenia nowotworu jelita jest ściśle związana ze stopniem jego rozwoju w chwili diagnozy, a poszukiwanie nieinwazyjnych metod czy markerów pozwalających szybko i tanio takie wczesne stany wykrywać, jest zarówno z klinicznego punktu widzenia, jak i naukowego, w pełni uzasadnione. Doktorant podjął badania znaczenia stężenia miedzi i arsenu jako markerów występowania raka jelita grubego. Przeanalizował również znaczenie stężeń tych mikroelementów w kontekście wyników badania 10 polimorfizmów w obrębie wybranych: rs2032582 w ABCB1, rs1695 w GSTP1, rs13181 w ERCC2, rs1799782 w XRCC1, rs1001179 w CAT, rs1050450 w GPX1, rs4880 w SOD2, rs1800566

w NQO1, rs12915189 w CRT3 i rs7191779 w MT1B. Do określenia stężenia arsenu i miedzi w próbkach krwi wykorzystano technikę spektrometrii mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS). Do wykonania analiz użyto spektrometru Elan DRC-e (PerkinElmer, Concord, ON, Kanada). Oznaczenia stężenia arsenu zostały przeprowadzone w trybie DRC („Dynamic Reaction Cell”) z wykorzystaniem tlenu jako gazu reakcyjnego. Genotypowanie przeprowadzono z zastosowaniem analizy PCR w czasie rzeczywistym z użyciem aparatu LightCycler 480. Zastosowane metody są adekwatne dla założonych celów i ich dobór jest prawidłowy, jednak opis metodyki analiz molekularnych jest dość zdawkowy i nie udało się zamieścić ryciny z wyników tych analiz.

Osoby zakwalifikowane do badania zdiagnozowane zostały w latach 2011–2017 w Klinice Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Onkologicznej Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 1/2 Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Zgromadzono informacje na temat wieku, płci, statusu palenia tytoniu oraz rodzinnej historii zachorowania na nowotwory złośliwe, a od osób chorych dodatkowo dane kliniczne odnośnie raka jelita grubego. Wykonano badania retrospektywne „case-control” u 182 (badanie arsenu) i 187 (badanie miedzi) osób obu płci z rozpoznaniem rakiem jelita grubego oraz równolicznej grupie kontrolnej. Do każdej osoby z grupy badanych przyporządkowano jedną, zdrową osobę, będącą dla niej tzw. „sparowaną kontrolą”, dopasowaną pod względem płci, palenia tytoniu (tzw. paczkołata $\pm 20\%$), roku urodzenia (± 3 lata) oraz liczby nowotworów wśród krewnych pierwszego stopnia. Grupy badane i kontrolne zostały dobrane prawidłowo.

W analizie statycznej uczestnicy badania zostali przypisani do jednej z czterech kategorii uszeregowanych rosnąco według stężenia arsenu/miedzi (tzw. ćwiartek: Q1–Q4), ustalonych na podstawie rozkładu poziomów arsenu/miedzi wśród osób grupy kontrolnej. Związek pomiędzy stężeniem badanych pierwiastków, osobno lub w połączeniu z wybranymi polimorfizmami genów, a występowaniem raka jelita grubego, został oszacowany za pomocą ilorazu szans (OR) oraz 95% przedziałów ufności (95% CI) z wyznaczeniem wartości prawdopodobieństwa testowego (p). Jako podgrupa referencyjna, użyta przy szacowaniu OR oraz 95% CI, została przyjęta ćwiartka, w której zaobserwowano najniższą proporcję liczby osób ze zdiagnozowanym rakiem jelita grubego do osób zdrowych. Analizę wykonano w oparciu o autorski, opracowany przez doktoranta od podstaw skrypt obliczeniowy, co odczytuję jako biegłość doktoranta w posługiwaniu się metodami programistycznymi i statystycznymi. W jednej z publikacji podano link do „The R Project for

Statistical Computing”, jednak zastosowany skrypt nie jest dostępny, w związku z czym nie było możliwości zapoznania się z nim. Zastosowane metody statystyczne oceniam jako właściwe.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że niskie stężenie arsenu we krwi wiązało się ze zwiększoną częstością występowania raka jelita grubego u kobiet (OR: 3,69; $p=0,005$). Jednoczesne nosicielstwo rs1001179–nonCC, rs2032582–CC, rs1050450–CC rs12915189–nonGG tą asocjację wzmacniało. W przypadku miedzi wysokie jej stężenie we krwi ($931-2\ 043\ \mu\text{g/L}$) powiązane było z występowaniem nowotworu jelita, a wzmocnienie tej asocjacji wystąpiło w przypadkach jednoczesnego nosicielstwa wariantów rs2032582–nonCC, rs7191779–nonGG, rs1001179–CC, rs4880–nonGG, rs1695–nonAA, rs1799782–CC. W badaniach nie wykryto nowego markera występowania nowotworu jelita. Autor wnioskuje, że oznaczenie stężeń arsenu i miedzi we krwi może stanowić marker selekcji pacjentów do dalszej diagnostyki raka jelita grubego - zwłaszcza w przypadku nosicielstwa określonych wariantów genetycznych charakterystycznych w poszczególnych mikroelementach. Wspólnym wariantem wzmacniającym oddziaływanie stężeń jest rs1001179 w obrębie genu CAT. Nosiciele tego wariantu w przypadku wysokiego stężenia miedzi mają podwyższone ryzyko raka jelita, a u nosicieli wszystkich innych kombinacji (non C-C) jest ono zwiększone w przypadku niskiego stężenia arsenu.

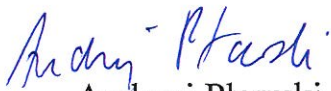
Oceniam, że manuskrypt rozprawy doktorskiej został przygotowany profesjonalnie w twardej oprawie. Zarówno ryciny, jak i tabele, są dobrze opisane, w sposób czytelny i logiczny uzupełniają tekst rozprawy. Pod względem językowym praca nie budzi zastrzeżeń. Wstęp dobrze opisuje kontekst naukowy prowadzonych badań, cele pracy sformułowano jasno i logicznie. Zastosowane metody są adekwatne do osiągnięcia zamierzonych celów badawczych. Wnioski wynikają z uzyskanych rezultatów i oceniam, że są prawidłowe. Nieliczne uwagi zamieszczone w recenzji nie wpływają na poziom naukowy pracy. Rozprawa doktorska Pana mgr. Piotr Baszuka pt. „Miedź i arsen jako markery występowania raka jelita grubego” poszerza naszą wiedzę o roli mikroelementów w powstawaniu i rozwoju nowotworów jelita. Wartość naukową tych badań potwierdza poziom czasopisma, gdzie wyniki tych prac opublikowano. W chwili obecnej miedź i arsen nie mogą spełnić roli markerów występowania choroby nowotworowej, choć związek koncentracji tych pierwiastków z nowotworem występuje. Należy prowadzić dalsze badania w tym kierunku, ponieważ problematyka dotycząca sposobów wczesnego wykrywania występowania czy wysokiego ryzyka wystąpienia nowotworów jest stale aktualna. W pracy

postuluje się możliwość wykorzystania wiedzy na temat stężenia miedzi i arsenu jako wstępnych markerów selekcji do dalszej diagnostyki. Rozprawa doktorska jest wynikiem intensywnej pracy przez lata i to nie tylko doktoranta, ale całego zespołu profesora Lubińskiego, w którym doktorant i jego promotor pracują od początku swoich karier. Dalsze badania prowadzone w tak dobrze przygotowanym zespole z ogromnym zapleczem zapewne przyczynią się do rozwoju wiedzy w tym zakresie.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska Pana mgr. Piotr Baszuka pt. „Miedź i arsen jako markery występowania raka jelita grubego” spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym” i wnoszę o dopuszczenie rozprawy doktorskiej Pana mgr. Piotr Baszuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. W związku z tym, że bardzo wysoko oceniam poziom rozprawy, co potwierdza prestiż czasopisma, w którym zamieszczono wyniki badań, wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr. Piotr Baszuka nagrodą summa cum laude.

Poznań, 2023.01.20


Andrzej Pławski