



28 marca 2023, Gdańsk

dr hab. Rafał Sądej, prof. Uczelni  
Zakład Enzymologii i Onkologii Molekularnej  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
rafal.sadej@gumed.edu.pl

**Recenzja osiągnięć naukowych Pani dr Karoliny Łuczowskiej  
w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego  
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne**

Otrzymane materiały stanowiące dokumentację postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego są wyczerpujące i starannie przygotowane. Zawierają one autoreferat (informację o przebiegu kariery, omówienie osiągnięć naukowych wymaganych przez stosowną ustawę, opis współprac badawczych z innymi jednostkami oraz prac, które powstały w ich wyniku, wyszczególnienie projektów badawczych w których Habilitantka brała udział a także informację o Jej całościowym dorobku naukowym, dydaktycznym i popularyzatorskim), wykaz wszystkich osiągnięć naukowych oraz kopie publikacji wchodzących w osiągnięcie naukowe. W oddzielnym załączniku znajdują się oświadczenia dr Łuczowskiej i innych współautorów o ich roli w powstaniu tych prac.

Pani doktor Karolina Łuczowska ukończyła studia magisterskie na Wydziale Biologii Uniwersytetu Szczecińskiego. W roku 2020 uzyskała stopień doktora na podstawie rozprawy zatytułowanej „Mechanizm działania bortezomibu w aspekcie wybranych parametrów molekularnych i klinicznych”, zrealizowanej w Zakładzie Patologii Ogólnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Bogusława Machalińskiego. Obecnie dr Łuczowska jest asystentem w ww. jednostce.

## Ocena osiągnięcia naukowego

Na osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego składa się cykl pięciu publikacji związanych z patogenezą polineuropatii (PN) indukowanej leczeniem pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym (MM). Trzy z prac mają charakter eksperymentalny a dwie stanowią przegląd literatury. We wszystkich publikacjach dr Łuczowska jest pierwszym autorem a w jednej z nich (Łuczowska i inni, *IJMS* 2022) pełni funkcję współautora korespondencyjnego. Zapoznanie się z oświadczeniami dr Łuczowskiej i współautorów o ich udziale w powstaniu publikacji pozwala stwierdzić, że udział Habilitantki w powstaniu prac był bez wątpienia wiodący.

W pierwszej z prac cyklu (Łuczowska i inni, *J Clin Med* 2021) przeprowadzono analizę profilu ekspresji genów w komórkach jednojądrzastych krwi oraz oceniono stężenie wybranych czynników prozapalnych w surowicy pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym przed rozpoczęciem oraz w trakcie leczenia. Otrzymane wyniki korelowano z występowaniem polineuropatii indukowanej stosowaną terapią. W grupie chorych leczonych, u których wystąpiła neuropatia, wykazano m.in. wzrost stężenia IL-10 oraz IL-1 $\beta$ . W analizie globalnej ekspresji genów zaobserwowano powiązanie występowania polineuropatii indukowanej leczeniem ze zmianami w poziomie ekspresji genów kodujących białka zaangażowane w regulację procesów immunologicznych. Spośród przeanalizowanych genów u pacjentów z PN wywołaną leczeniem istotnie przyrastała ekspresja IFN- $\gamma$ . Powyższe dane sugerują, że występowanie stanu zapalnego może leżeć u podstaw PN wywołanej leczeniem.

W drugiej z prac doświadczalnych (Łuczowska i inni, *Leuk Lymphoma* 2021) w osoczu pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym poddanych leczeniu analizowano krążące miRNA a otrzymane wyniki korelowano z występowaniem polineuropatii w poszukiwaniu jej ewentualnego markera. Najbardziej obiecującym czynnikiem diagnostycznym okazał się miR-22-3p o wartości AUC krzywej ROC równej 0.807. Analiza bioinformatyczna powiązała zidentyfikowane miRNA z procesami apoptozy neuronów, utrzymaniem populacji komórek macierzystych neuronów, zamknięciem cewy nerwowej oraz procesami apoptozy zależnej i niezależnej od mitochondriów.

W trzeciej ujętej w cyklu pracy (Łuczowska i inni, *Int J Mol Sci* 2022) słusznie podjęto próbę zaprojektowania modelu *in vitro* neuropatii. Nawiązując do wcześniejszych wyników dr Łuczowskiej przeprowadzono globalną analizę zmian w ekspresji genów, miRNA oraz acetylacji wybranych histonów w zróżnicowanych w neurony komórkach inkubowanych z bortezomibem. Zaobserwowano, że takie traktowanie neuronów powoduje spadek ekspresji 90 genów przy jednoczesnym wzroście 8 genów. Wyniki potwierdzono dla wybranych genów

oceniając ich poziom ekspresji techniką qPCR. Następnie wykonano analizy bioinformatyczne - ontologii genów i GSEA (ang. *gene set enrichment analysis*), które wskazały na istotną zmianę kilku procesów m.in. regulacji struktury chromatyny. Zidentyfikowano także obniżony poziom acetylacji histonu H3 i H3K9 metodą ELISA i Western blotting. Przyznam się, że nieszczęśliwie przekonuje mnie zaprezentowany w pracy wynik drugiego z testów. Prążek związany z acetylowanym histonem w komórkach poddanych działaniu bortezomibem wydaje się podążać za intensywnością prążka specyficznego dla aktyny. Globalna analiza ekspresji mRNA wskazała na 4 miRNA potencjalnie związane z rozwojem PN. Analiza bioinformatyczna powiązała występowanie miR-6810-5p ze spadkiem poziomu ekspresji genów odpowiedzialnych za utrzymanie homeostazy układu nerwowego. Zastanawia mnie dlaczego biorąc pod uwagę indukowane bortezomibem zmiany w poziomie ekspresji konkretnych genów czy miRNA nie do końca pokrywają się z wynikami Habilitantki pochodzącymi z przedstawionych analiz klinicznych. Prawdopodobnie świadczy to o niedoskonałości zaproponowanego modelu (być może warto byłoby zaproponować dodatkowy układ badawczy). Oczywiście jest, że żaden model *in vitro* nie odzwierciedla w pełni procesu chorobowego, co może tłumaczyć pewien brak spójności otrzymanych wyników. Nie neguje to jednak wartości prac, zaś sam fakt otrzymania modelu *in vitro* uważam za osiągnięcie. Myślę, że kontynuacja tych badań byłaby w pełni uzasadniona.

W opisywanym osiągnięciu znalazły się również prace przeglądowe. W pierwszej z nich przedstawiono obecny stan wiedzy na temat wpływu czynników molekularnych i epigenetycznych na rozwój neuropatii indukowanej leczeniem (Łuczkowska i inni, *Acta Haematologica Polonica* 2021). W drugiej z publikacji (Łuczkowska i inni, *Leuk Lymphoma* 2022) skupiono się na opisie roli neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w rozwoju szpiczaka plazmocytozy i indukowanej leczeniem neuropatii. Wskazano na rolę BDNF w patogenezie MM, w tym proliferacji i migracji komórek nowotworowych oraz procesie angiogenezy. W autoreferacie zabrakło mi informacji dlaczego autorka skupiła się na tym konkretnym czynniku wzrostu w świetle otrzymanych w zespole badań. Dodatkowo niewątpliwym atutem dobrych prac przeglądowych jest nie tylko opis istniejącego stanu wiedzy ale autorskie, krytyczne spojrzenie na dostępną literaturę oraz ewentualne zasugerowanie przyszłych trendów naukowych czy klinicznych dotyczących opisywanego zagadnienia. Tego typu podejścia zabrakło mi w opisywanych pracach.

Sumaryczny współczynnik oddziaływań (IF) prac zaliczanych do osiągnięcia wynosi 17,164. Prace opublikowane są w czterech czasopismach z listy filadelfijskiej, których IF klasyfikuje je do pierwszego (*Int J Mol Sci*), drugiego (*J Clin Med*) i trzeciego kwartyła (2

publikacje w *Leukemia & Lymphoma*). Czasopismo *Acta Haematologica Polonica*, w którym opublikowana jest piąta praca nie jest ujęte w JCR a w związku z tym nie posiada IF. Powyższe prace w sumie mają tylko 7 cytowań (wg. *web of science*). Są to jednak publikacje bardzo „młode” (opublikowane w latach 2021-2022) a ich wartość merytoryczna/odzew naukowy zostanie zweryfikowana liczbą cytowań w kolejnych latach.

W pracach zaliczanych do osiągnięcia Habilitantka bada „wpływ czynników molekularnych i epigenetycznych na rozwój polineuropatii obwodowej u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym”. Dostrzegam pewne braki tzw. „twardych” danych dokumentujących wspomniany „wpływ”. Wydaje mi się również, że Habilitantka nieco zbyt stanowczo interpretuje otrzymane wyniki. Fakt korelacji pomiędzy zmianą stężenia konkretnej cytokiny, poziomem ekspresji danego genu, miRNA czy acetylacji histonów a leczeniem/występowaniem neuropatii lub traktowaniem komórek *in vitro* bortezomibem nie są jednoznacznym dowodem „na ich istotny wpływ na rozwój CiPN”. Tego typu stwierdzenia są bardzo stanowcze, wymagają licznych i niezbitych dowodów. Oczywiście wartościowe są przedstawione w pracach korelacje czynników molekularnych i epigenetycznych z występowaniem PN wywołanej leczeniem pacjentów ze szpiczakiem, natomiast nieco brakuje mi doświadczeń, przykładowo analizujących znaczenie zidentyfikowanej w materiale klinicznym konkretnej cytokiny dla zróżnicowanych neuronów traktowanych bortezomibem. Wydaje mi się, że weryfikacja konkretnych markerów/czynników w modelu *in vitro* lub *in vivo* pozwoliłaby na opublikowanie wyników w znacznie lepszych czasopismach. Podsumowując, mimo drobnych wad, uważam, że przedstawiony cykl publikacji jest ciekawy i wartościowy naukowo a osiągnięcie naukowe stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej.

### **Ocena pozostałego dorobku naukowego**

Analizując dorobek naukowy dr Łuczkowskiej oczywistym jest Jej intensywna współpraca z innymi jednostkami krajowymi i zagranicznymi oraz różnymi zespołami badawczymi Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego. Przykładowo opublikowane zostały prace we współpracy z Uniwersytetem w Greifswaldzie (Niemcy) obejmujące analizy ekspresji genów i miRNA w komórkach nerwiaka zarodkowego traktowanych bortezomibem oraz jego wpływu na proliferację. Wspólnie z zespołem z Uniwersytetu w Aarhus (Dania) badano wpływ bortezomibu na metylację DNA w komórkach szpiczaka traktowanych. Dr Łuczkowska we współpracy z grupą z Zamiejscowego Wydziału Kultury Fizycznej (w Gorzowie Wielkopolskim) Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu badała rolę suplementacji spiruliną, L-teaniną oraz ekstraktem z traganką w ochronie przed deficytem funkcji

immunologicznych związanych z intensywnymi ćwiczeniami. Ponadto, w ramach współpracy Habilitantki z innymi jednostkami uczelni macierzystej powstały publikacje, dotyczące głównie mechanizmów molekularnych i epigenetycznych różnych procesów patologicznych ze szczególnym uwzględnieniem znaczenia układu immunologicznego w ich rozwoju. Efektem powyższych działalności dr Łuczkowskiej jest ponad 20 prac opublikowanych na przestrzeni 2019-2022. Wynik ten świadczy o imponującej pracowitości Habilitantki i znakomitych zdolnościach pracy w dużym zespole. Podsumowując, niekwestionowana jest dynamiczna współpraca Habilitantki z innymi zespołami krajowymi i zagranicznymi. Z obowiązku recenzenta nadmienić muszę, że pewien niedosyt pozostawia brak aktywności badawczej w innej jednostce naukowej realizowanej w postaci klasycznego stażu podoktorskiego.

W trakcie swojej kariery Pani dr Łuczkowska uczestniczyła w charakterze wykonawcy aż 9. grantach naukowych. Nieco zadziwiającym jest jednak fakt, że przy tak bogatym dorobku naukowym Habilitantka nie pozyskała finansowania i nie kierowała znaczącym projektem naukowym. Zauważyć należy, że zrealizowany projekt Miniatura nie jest klasycznym grantem badawczym a wg. definicji NCN służy sfinansowaniu realizacji pojedynczych działań naukowych takich jak badania wstępne/pilotażowe, kwerendy, staże naukowe, wyjazdy badawcze lub konsultacyjne. Z drugiej strony wiodący udział dr Łuczkowskiej w wielu pracach oraz umiejętność organizacji badań we współpracy, wskazują na niezależność cechującą pracownika samodzielnego ze stopniem doktora habilitowanego. Nie mam więc wątpliwości co do istotnej aktywności naukowej Habilitantki. Na dzień wszczęcia postępowania była ona autorką 39 prac o łącznym współczynniku oddziaływań 188,14 co na tym etapie kariery jest wynikiem bardzo dobrym.

Poza aktywnością naukową Habilitantka zaangażowana jest w organizację nauczania. Prowadzi seminaria, ćwiczenia praktyczne i wykłady na różnych kierunkach w jednostce macierzystej. Dodatkowo opiekuje się na studentami odbywającymi praktyki oraz koordynuje koło naukowe. Dr Łuczkowska uczestniczyła również w kursach dot. doskonalenia kompetencji dydaktycznych oraz specjalistycznych szkoleniach związanych z metodologią badań.

Reasumując, całościowy dorobek dr Karoliny Łuczkowskiej stanowi znaczący wkład do rozwoju nauki i odpowiada kryteriom stawianym przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego określonym w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm). Z wyżej wymienionych powodów rekomenduję

Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego  
poparcie wniosku o nadanie dr Karolinie Łuczowskiej stopnia doktora habilitowanego w  
dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

R. Sodej