

Tadeusz Pieńkowski  
Oddział Onkologii  
Radomskie Centrum Onkologii  
Ul. Uniwersytecka 6a  
26-600 Radom  
t.pienkowski@onkologiaradom.pl

Radom, dn. 03.07.2023r.

Dr hab. n. med. Edyta Paczkowska  
Dziekan Wydziału Medycyny i Stomatologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny  
Ul. Rybacka 1  
70-204 Szczecin

*Szanowna Pani Profesor,*

Recenzja osiągnięcia naukowego oraz całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr Karoliny Łuczkowskiej w związku z jej wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego

#### **Podstawa formalna recenzji**

Niniejsza recenzja wykonana została na podstawie Uchwały nr 244/22/23 Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie z dnia 31 marca 2023 roku i Uchwały Prezydium Rady Doskonałości Naukowej z dnia 27 marca 2023.

Z przedłożonej dokumentacji wynika, że spełnione zostały wszystkie wymagania formalne niezbędne do wszczęcia postępowania habilitacyjnego. Recenzja obejmuje ocenę osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego i dotyczy obok charakterystyki sylwetki naukowej trzy najważniejsze elementy składające się na dorobek Habilitanta, to jest:

- osiągnięcie naukowe będące przedmiotem postępowania habilitacyjnego,
- pozostałe osiągnięcia naukowe,
- dorobek dydaktyczny, organizacyjny i ekspercki.

## **1. Wykształcenie i kariera zawodowa Habilitantki.**

Doktor Karolina Irena Łuczowska ukończyła w 2013 roku studia na Wydziale Biologii Uniwersytetu Szczecińskiego i uzyskała dyplom magistra biotechnologii. Po ukończeniu studiów habilitantka w latach 2013 do 2014 odbyła staż w Zakładzie Patologii Ogólnej Katedry Fizjopatologii PUM w Szczecinie. Następnie podjęła studia doktoranckie w ramach Studium Doktoranckiego i w Zakładzie Patologii Ogólnej Katedry Fizjopatologii PUM w Szczecinie przeprowadziła badania, które były podstawą przygotowania rozprawy doktorskiej. Obrona doktoratu odbyła się w 2020 roku. W latach 2018 – 2020 pracowała jako cytometrystka w Banku Komórek Krwiotwórczych w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Nr 1 PUM. W 2019 roku podjęła pracę w Zakładzie Patologii Ogólnej PUM początkowo jako młodszy specjalista inżynierjno-techniczny. Od 2021 roku i nadal Habilitantka jest asystentem w Zakładzie Patologii Ogólnej PUM, zatrudniona jest na stanowisku naukowo-dydaktycznym. W tym czasie Habilitantka uczestniczyła w realizacji badań naukowych:

1. Od 2017 do 2018: młodszy specjalista w Grancie finansowanym z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju STRATEGMED 1/234261/2NCBR/2014.
2. Od 2018 do 2021: realizacja zadań badawczych z Grantu finansowanego z Narodowego Centrum Nauki OPUS 2016/23/N/NZ7/03363.
3. Od 2020 do 2022: realizacja zadań badawczych z Grantu finansowanego z Agencji Badań Medycznych 2020/ABM/covid19/0059.

Dyplom Doktora Nauk Medycznych Habilitantka uzyskała w 2020 na Pomorskim Uniwersytecie Medycznym na podstawie rozprawy „Mechanizm działania bortezomibu w aspekcie wybranych parametrów molekularnych i klinicznych” Promotorem pracy doktorskiej był prof. dr hab. n. med. Bogusław Machaliński. Rozprawę doktorską stanowił cykl 3 publikacji o łącznym IF 14.392 Recenzentami rozprawy doktorskiej byli : prof. dr hab. n. med. Andrzej Deptała z Kliniki Onkologii i Hematologii w Centralnym Szpitalu Klinicznym Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji w Warszawie i prof. dr hab. n. med. Jacek Roliński z Zakładu Transplantologii Katedry i Zakładu Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie- summa cum laude

Od chwili ukończenia studiów magisterskich do momentu uzyskania przez Habilitantkę stopnia doktora minęło 7 lat. W tym czasie Habilitantka odbyła studia doktoranckie i uczestniczyła w realizacji grantów badawczych finansowanych z Narodowego Centrum Nauki. Świadczy to o dużym zaangażowaniu dr Łuczowskiej w prowadzenie badań naukowych.

## **2. Osiągnięcie naukowe doktor Łuczowskiej będące przedmiotem postępowania habilitacyjnego.**

Osiągnięciem naukowym będącym podstawą do wnioskowania o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego jest cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy, pod tytułem:

„Wpływ czynników molekularnych i epigenetycznych na rozwój polineuropatii obwodowej u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym”

Przedstawione do oceny dorobku w postępowaniu habilitacyjnym publikacje są wynikiem badań wykonanych w Zakładzie Patologii Ogólnej Katedry Fizjopatologii PUM w Szczecinie. Badania te były współfinansowane z grantu badawczego Narodowego Centrum Nauki OPUS 2016/23/N/NZ7/03363.

Szpiczak plazmocytowy jest nowotworem w którym dochodzi do monoklonalnego rozrostu nieprawidłowych komórek wywodzących się ze transformowanego plazmocyta. W wyniku tego procesu dochodzi do niekontrolowanego wzrostu komórek nowotworowych oraz do uwalniania białka monoklonalnego. Szpiczak plazmocytowy jest poważnym problemem epidemiologicznym. Jest to

obecnie w Polsce trzeci co do częstości występowania nowotwór złośliwych u dorosłych. W ostatnich latach nastąpił duży postęp w leczeniu chorych na szpiczaka plazmocytozy. Metodą z wyboru w leczeniu pierwszej linii jest mieloablacyjna chemioterapia z następowym przeszczepem autologicznych krwiotwórczych komórek macierzystych. W przypadku przeciwwskazań do zastosowania tej metody oraz w leczeniu nawrotów tej choroby stosowane są programy leczenia złożone z inhibitorów proteazomu ( bortezomid, karfilzomib ), leków immunomodulujących ( talidomid, lenalidomid, pomalidomid) i klasycznych cytostatyków i sterydów. Wprowadzanie nowych generacji leków spowodowało istotną poprawę wyników leczenia i wydłużenie życia chorych. Jednym z podstawowych problemów ograniczających możliwości skutecznego leczenia są związane ze stosowaniem poszczególnych leków toksyczności. Ich powstanie powoduje konieczność zmniejszania intensywności leczenia lub jego przerywania. Tego rodzaju modyfikacje wpływają niekorzystnie na wyniki leczenia. U chorych na szpiczaka plazmocytozy dużym problemem jest polineuropatia. Zaburzenie może występować pierwotnie w wyniku oddziaływań białka monoklonalnego. Znacznie częstszym zjawiskiem u tych chorych jest polineuropatia indukowana powstająca w wyniku leczenia talidomidem lub bortezomidem. Polineuropatia związana ze stosowaniem bortezomidu ma charakter czuciowy. U chorych występują dokuczliwe objawy w postaci parestezji, zaburzeń czucia i kurczów mięśniowych. Powikłanie to występuje u blisko połowy chorych otrzymujących ten lek. Objawy mogą być bardzo nasilone, dolegliwości z nimi związane powodują duże cierpienie i zmuszają do stosowania silnych leków przeciwbólowych. Z tego powodu często konieczna jest redukcja dawek leku lub przerwanie leczenia. Polineuropatia związana ze stosowaniem bortezomidu ma w większości przypadków charakter odwracalny. Podskórne podanie tego leku związane jest z mniejszym ryzykiem wystąpienia polineuropatii.

Mechanizm indukowanej bortezomidem polineuropatii nie jest w pełni poznany. Odkrycie mechanizmów rozwoju tego powikłania ma duże znaczenie naukowe przekładające się na możliwość wypracowania skutecznych metod redukcji ryzyka wystąpienia tego powikłania i jego leczenia. Pozwoliłoby to na zwiększenie możliwości skutecznego leczenia chorych na szpiczaka plazmocytozy.

Doktor Łuczkowska podjęła oryginalne badania nad wpływem czynników molekularnych i epigenetycznych na rozwój indukowanej lekami polineuropatii u chorych na szpiczaka plazmocytozy.

Badania Habilitantki miały 5 celów szczegółowych

1. Ocena wpływu zmian w globalnym profilu ekspresji genów, cząsteczek miRNA jak i acetylacji wybranych histonów pod wpływem działania niskich, kilkukrotnych dawek bortezomidu oraz określeniu interakcji na linii miRNA-mRNA w modelu in vitro neuropatii
2. Zbadanie roli cytokin prozapalnych (TNF- $\alpha$ , IL-6, Chitinase3, IL-10, CCL2, IL-1 $\beta$ , i IFN- $\gamma$ ) w osoczu chorych na szpiczaka plazmocytozy przed jak i podczas terapii (głównie schematem VTD)
3. Określenie wpływu zmian w globalnym profilu ekspresji genów oraz krążących w osoczu miRNAs u chorych na szpiczaka plazmocytozy przed jak i podczas terapii
4. Poszukiwanie biomarkera neuropatii
5. Określenie roli czynnika troficznego BDNF w patogenezie polineuropatii.

Wyniki badań które są oryginalnym indywidualnym wkładem Habilitantki w naukę powiększającym wiedzę dotyczącą roli czynników molekularnych i epigenetycznych w rozwoju indukowanej lekami polineuropatii zostały opublikowane w poniższych artykułach i są znaczącym wkład w rozwój nauk medycznych.

Osiągnięciem naukowym będącym podstawą do wnioskowania o uzyskanie przez doktor Łuczowską stopnia naukowego doktora habilitowanego jest cykl tematycznie powiązanych artykułów pod zbiorczym tytułem „Wpływ czynników molekularnych i epigenetycznych na rozwój polineuropatii obwodowej u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym”. Prace te są ze sobą powiązane tematycznie i tworzą logiczny ciąg badań naukowych.

1. Łuczowska K, Rogińska D, Kulig P, Bielikowicz A, Baumert B, Machaliński B. Bortezomib-Induced Epigenetic Alterations in Nerve Cells: Focus on the Mechanisms Contributing to the Peripheral Neuropathy Development. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 23;23(5):2431. IF=6.208, MEiN=140
2. Łuczowska K, Rogińska D, Ulańczyk Z, Safranow K, Paczkowska E, Baumert B, Milczarek S, Osękowska B, Górka M, Borowiecka E, Sommerfeld K, Zawodny P, Szudy-Szczyrek A, Hus M, Machaliński B. microRNAs as the biomarkers of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2021 Nov;62(11):2768-2776. IF= 2.996, MEiN=70
3. Łuczowska K, Rutka M, Rogińska D, Paczkowska E, Baumert B, Milczarek S, Górka M, Kulig P, Osękowska B, Janowski M, Safranow K, Sommerfeld K, Borowiecka E, Zawodny P, Kocłęga A, Helbig G, Machaliński B. The Potential Role of Proinflammatory Cytokines and Complement Components in the Development of Drug-Induced Neuropathy in Patients with Multiple Myeloma. *J Clin Med*. 2021 Oct 4;10(19):4584. IF= 4.964, MEiN=140
4. Łuczowska K, Machaliński B. Peripheral neuropathy in patients with multiple myeloma: molecular effects of bortezomib. *Acta Haematologica Polonica* 2021 52; 375–381. MEiN=100
5. Łuczowska K, Kulig P, Baumert B, Machaliński B. Brain-derived neurotrophic factor: focus on the pathogenesis of multiple myeloma and the development of treatment-induced peripheral neuropathy. *Leuk Lymphoma*. 2022 Aug 23;1-8. IF= 2.996, MEiN=70

Łączna wartość bibliometryczna wybranych publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe: Sumaryczny współczynnik oddziaływania tych publikacji wynosi (IF) wg bazy Journal of Citation Reports (JCR) – 17,164 punktów, a punktacja MEiN – 520 punktów.

Habilitationka przeprowadziła badania kliniczne i badania in vitro. Na szczególną uwagę zasługuje przemyślany i konsekwentny charakter prowadzonych badań. Wszystkie publikacje zostały wykonane w krótkim czasie i opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych. Na przeprowadzenie badań klinicznych uzyskała przed ich rozpoczęciem akceptację Komisji Bioetycznej.

W pierwszej pracy (1 Łuczowska K, Rogińska D, Kulig P, Bielikowicz A, Baumert B, Machaliński B. Bortezomib-Induced Epigenetic Alterations in Nerve Cells: Focus on the Mechanisms Contributing to the Peripheral Neuropathy Development. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 23;23(5):2431.) Habilitationka zbadała znaczenie cytokin prozapalnych oraz zmian w ekspresji genów u chorych na szpiczaka plazmocytozy. Wyodrębniono trzy grupy pacjentów chorych na szpiczaka pierwszą stanowili pacjenci przed leczeniem bez objawów polineuropatii, drugą pacjenci u których w trakcie leczenia pojawiła się polineuropatia a trzecią pacjenci u których w trakcie leczenia nie wystąpiła polineuropatia. W badanej grupie Habilitationka zbadała stężenie cytokin prozapalnych w osoczu. W badanej grupie wykazano globalną analizę ekspresji genów. Doktor Łuczowska wykazała, że u chorych u których w trakcie wystąpiła polineuropatia nastąpił znamieny statystycznie wzrost stężenia IL-10 i IL1beta. W globalnej analizie ekspresji genów u chorych z polineuropatią zaobserwowano wzrost procesów immunologicznych oraz aktywację procesów mogących mieć wpływ na rozwój neurotoksyczności. Przeprowadzone badania pozwoliły na wykazanie wzrostu ekspresji genu IFN-γ u chorych na szpiczaka u których wystąpiła polineuropatia w trakcie leczenia w stosunku do pacjentów nie wykazujących takich objawów w trakcie leczenia. Habilitationka wnioskuje, że czynniki



prozapalne mogą potencjalnie stać się celem leczenia polineuropatii polekowej u chorych na szpiczaka plazmocytoowego.

Kolejnym etapem badań Habilitantki były procesy epigenetyczne które mogą być związane z wystąpieniem polineuropatii polekowej. Poświęcona temu zagadnieniu jest kolejna publikacja ( 2 Łuczkowska K, Rogińska D, Ulańczyk Z, Safranow K, Paczkowska E, Baumert B, Milczarek S, Osękowska B, Górka M, Borowiecka E, Sommerfeld K, Zawodny P, Szudy-Szczyrek A, Hus M, Machaliński B. microRNAs as the biomarkers of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2021 Nov;62(11):2768-2776.) Badaną grupę stanowili chorzy leczeni z powodu szpiczaka plazmocytoowego u których wystąpiła lub nie wystąpiła polineuropatia polekowa. Celem tego badania była identyfikacja u chorych na szpiczaka plazmocytoowego biomarkera polineuropatii polekowej. W tym badaniu analizie poddano zmiany w profilu krążących miRNAs w osoczu chorych. W badaniu uczestniczyło 70 pacjentów. W celu wykrycia biomarkera polineuropatii dr Łuczkowska wykonała analizę ROC. W wyniku tych badań markerem o prawdopodobnie istotnym znaczeniu okazał się miR-22-3p, którego wartość AUC wynosiła 0.807 ( $p=0.00000003$ , Youden's index=0.49), oznacza to dobrą wartość diagnostyczną czynnika. Dodatkowo stwierdzono dwa miRNA (miR-23a-3p, miR-24-5p) z wartością AUC>0.7, co potencjalnie może wskazywać na ich znaczenie jako markerów polineuropatii polekowej. Autorka słusznie wnioskuje, że zmiany w poziomie miRNAs wyprzedzają pojawienie się objawów klinicznych. Umożliwia to szybką diagnostykę i podjęcie leczenia przed wystąpieniem objawów klinicznych.

Kolejne badanie kliniczne przeprowadzone przez Habilitantkę dotyczyło cytokin prozapalnych i składowych dopełniacza w powstawaniu zależnej od leczenia polineuropatii. ( 3 Łuczkowska K, Rutka M, Rogińska D, Paczkowska E, Baumert B, Milczarek S, Górka M, Kulig P, Osękowska B, Janowski M, Safranow K, Sommerfeld K, Borowiecka E, Zawodny P, Kocłęga A, Helbig G, Machaliński B. The Potential Role of Proinflammatory Cytokines and Complement Components in the Development of Drug-Induced Neuropathy in Patients with Multiple Myeloma. *J Clin Med*. 2021 Oct 4;10(19):4584 ). Celem tego badania było zbadanie zależności pomiędzy czynnikami prozapalnymi a wystąpieniem polineuropatii u chorych leczonych z powodu szpiczaka plazmocytoowego ze szczególnym zastosowaniem programu VTD ( bortezomid, talidomid, deksametazon) Habilitantka zwróciła uwagę na doniesienia w piśmiennictwie wskazujące na możliwe znaczenie niektórych cytokin takich jak TNF-, IL-6, TGF- i IL-1 w procesie postawiania polineuropatii. Celem tego badania było poszukiwanie zależności pomiędzy wystąpieniem polineuropatii u chorych na szpiczaka plazmocytoowego ze szczególnym uwzględnieniem chorych leczonych programem VTD (bortezomid, talidomid, deksametazon) a prozapalnymi cytokinami i składowymi dopełniacza. Do badania włączono 120 chorych na szpiczaka plazmocytoowego i podzielono ich na trzy grupy

1. Chorzy przed leczeniem bez neutropenii pacjenci;
2. Chorzy, u których wystąpiły objawy neuropatii podczas leczenia;
3. Chorzy, u których nie wystąpiły objawy neuropatii podczas leczenia.

W badaniu tym większość chorych leczono programem VTD (bortezomid, talidomid, deksametazon) U kilkunastu procentach chorych bortezomid wchodził w skład innych programów leczenia. U pacjentów z badanej grupy najczęściej wystąpiła neutropenia czuciowa ( 66,66%) i czuciowo-ruchowa( 16,66%) Najczęściej była to neutropenia w II lub w III stopniu wg skali NCI-CTCAE. Objawy klinicznie pojawiały się już po pierwszym kursie leczenia i występowały nawet po 23 podaniu leków. Habilitantka słusznie zauważa, że polineuropatia może występować jako powikłanie szpiczaka plazmocytoowego co uwzględniła w krytycznej ocenie uzyskanych wyników Krew do badań pobierano przed leczeniem i w regularnych interwałach w trakcie terapii. Wykazano, że u chorych na szpiczaka plazmocytoowego otrzymujących leczenie niezależnie od występowania objawów polineuropatii występuje w osoczu zwiększone stężenie CCL2, IL-1 i IFN. U chorych u których wystąpiła neuropatia stwierdzono znaczne podwyższenie stężenia IL-1 w porównaniu do chorych bez neuropatii. Zjawisko

to występowało u chorych zarówno przed i w trakcie leczenia. Habilitantka na próbkach RNA uzyskanych od wszystkich pacjentów przeprowadziła analizę dysregulowanych mRNA. Badania przeprowadzone zostały na wybranych genach zaangażowanych w regulację odpowiedzi immunologicznej (CCL2, IFN-g, IL-1b, CFP, CFD). Wykazano, że u leczonych chorych z neuropatią wybrane geny wykazywały zwiększoną ekspresję zarówno przed leczeniem jak i w jego trakcie. Ekspresja tych genów była istotnie wyższa w porównaniu do grupy leczonych chorych u których nie wystąpiła polineuropatia. Statystycznie istotny wzrost ekspresji genu kodującego IFN wystąpił u chorych leczonych u których wystąpiła polineuropatia. Ważnym wynikiem uzyskanym w trakcie badań był wzrost ekspresji genu kodującego IL-1 u pacjentów z polineuropatią w trakcie leczenia w porównaniu z pacjentami bez polineuropatii przed i w trakcie leczenia. W tym przypadku uzyskany wynik był statystycznie nieznamienny. W analizie ekspresji wybranych czynników prozapalnych w osoczu chorych z badanej grupy uzyskano interesujące wyniki. U chorych nieleczonych, u których nie wystąpiła neutropenia stwierdzono wyższe stężenia TNF- $\alpha$ , chitynazy3, IL-6 i IL-10 niż w innych grupach. Najistotniejszym wynikiem uzyskanym w tej części badań było wykazanie statystycznie znaczącego wzrostu IL-1 u chorych z neuropatią w porównaniu z pacjentami przed i w trakcie leczenia bez neuropatii. Habilitantka wykazała również że u chorych z neuropatią stopnia 3 stężenia CCL2 w osoczu było wyższe niż u pacjentów z neuropatią stopnia 1. Choć wynik ten był statystycznie nieznamienny obserwacja ta wymaga dalszych badań i może mieć duże znaczenie kliniczne. W celu wykazania korelacji parametrów klinicznych i badanych czynników, Habilitantka przeprowadziła analizę współczynnika korelacji rang Spearmana. Analiza ta wykazała istotne zależności. U leczonych chorych z neuropatią wykazano umiarkowane dodatnie korelacje pomiędzy kappa FLC a ekspresją genu IFN-g ( $r_s = 0,447$ ) oraz między FLC lambda a stężeniem CCL2 w osoczu. Ekspresja IFN-g była umiarkowanie skorelowana z ekspresją genu CCL2. Jedyną ujemną korelację w powyższej grupie wykazano między stężeniem CCL2 i IL-1 w osoczu. W grupie bez neuropatii podczas leczenia, stwierdzono umiarkowaną dodatnią korelację między stężeniem CCL2 w osoczu i WBC. Inną interesującą obserwacją była dodatnia korelacja między ekspresją par genów, CCL2 i IFN-g ( $r_s = 0,564$ ) oraz FactorD i IL-1. Habilitantka wnioskuje że w osoczu chorych na szpiczaka plazmocytozy w czasie leczenia niezależnie od występowania polineuropatii stężenie CCL2, IL-1 i IFN- było wyższe niż u chorych nieleczonych bez objawów neuropatii. Stężenie IL-1 w osoczu pacjentów z neuropatią było znacznie zwiększone w porównaniu z pacjentami bez polineuropatii przed i w trakcie leczenia. Wyniki te zostały potwierdzone przez przeprowadzenie całkowitej analizy ekspresji mRNA przy użyciu technologii mikromacierzy. Wykazano, że istotne statystycznie zmiany dotyczyły ekspresji genów regulujących procesy immunologiczne i apoptotyczne. Uzyskane w tym badaniu wyniki dotyczące stężeń czynników prozapalnych w osoczu ekspresje genów i mikromacierzy genetycznych w skorelowaniu z danymi klinicznymi są ze sobą zgodne. Wskazują one na konieczność kontynuowania badań w tym obszarze. Badania te mogą doprowadzić do wykrycia markerów związanych z ryzykiem wystąpienia polineuropatii oraz opracowania nowych strategii leczenia tego powikłania.

Po przeprowadzeniu powyższych badań Habilitantka podsumowała aktualny stan wiedzy dotyczący molekularnych podstaw polineuropatii polekowej u chorych na szpiczaka plazmocytozy leczonych bortezomidem (4 Łuczowska K, Machaliński B. Peripheral neuropathy in patients with multiple myeloma: molecular effects of bortezomib. *Acta Haematologica Polonica* 2021 52;) Dokonany przez doktor Łuczowską obszerny przegląd aktualnego piśmiennictwa wskazał, że w dotychczasowych badaniach problemy związane z zagadnieniami epigenetycznymi nie zostały sposób wystarczający zbadane.

Kolejna publikacja dotyczyła znaczenia BDNF w patogenezie szpiczaka plazmocytozy i w powstawaniu neutropenia. 5.Łuczowska K, Kulig P, Baumert B, Machaliński B. Brain-derived neurotrophic factor: focus on the pathogenesis of multiple myeloma and the development of treatment-induced peripheral neuropathy. *Leuk Lymphoma*. 2022 Aug 23;1-8

W pracy tej autorka dokonała przeglądu aktualnej wiedzy na temat roli neurotroficznego czynnika hamującego czynnik neurotroficzny (BDNF) w procesach neuroregeneracji, neuroprotekcji i w regulacji funkcji takich jak proliferacja i apoptoza w komórkach nieneuronalnych. Zmniejszenie stężenia tego czynnika koreluje z rozwojem polineuropatii obwodowej. Wskazane jest dalsze kontynuowanie badań w tym obszarze.

Najistotniejszymi wnioskami z przeprowadzonych przez Habilitantkę badań dotyczących wpływu czynników molekularnych i epigenetycznych na rozwój neuropatii indukowanej leczeniem u chorych na szpiczaka plazmocytozy są:

1. Udokumentowanie wpływu na rozwój polineuropatii obwodowej u chorych na szpiczaka plazmocytozy zmian ekspresji genów regulujących procesy immunologiczne oraz wydzielanie IL-1 $\beta$  i IL-10.
2. Wykazanie, że krążące w osoczu miRNA: miR-22-3p, miR-23a-3p, miR-24-5p są biomarkerem polineuropatii.
3. Udowodnienie, że mechanizmy epigenetyczne mają wpływ na rozwój polineuropatii. Świadczy o tym wykazanie w badaniach *in vitro* zmniejszenie acetylacji histonów (H3 i H3K9), wystąpienie zmian w poziomie cząsteczek miRNAs oraz ich korelacje na linii miRNA-mRNA, które realnie wpływają na zaburzenia w układzie nerwowym.

Dokonane przez Habilitantkę odkrycia mają duże znaczenie naukowe i kliniczne. Przyczynić się one mogą do ograniczenia ryzyka wystąpienia związanej z leczeniem polineuropatii u chorych na szpiczaka plazmocytozy. Stanowią one również podstawę opracowania nowych metod leczenia tego powikłania. Przyczyni to się do istotnej poprawy jakości życia chorych i być może umożliwi dalszą poprawę wyników leczenia.

**3. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.**

1. Współpraca z Uniwersytetem w Greifswaldzie.  
W ramach tej współpracy dr Łuczkowska prowadziła badania *in vitro* w których wykazała że bortezomib modyfikuje ekspresję mRNAs i wpływa na czynność genów promujących apoptozę, regulujących neurogenezę i aktywujących proces śmierci neuronów. Odrębnym wnioskiem z tych badań jest wykazanie hamowania przez bortezomib proliferacji komórek nerwiaka zarodkowego *in vitro*. To ostatnie odkrycie może mieć duże znaczenie kliniczne w rozwoju nowych metod leczenia tej choroby.
2. Współpraca z Uniwersytetem w Aarhus.  
Badania *in vitro* prowadzone przez Habilitantkę na liniach komórkowych szpiczaka zarodkowego SH-SY5Y przeprowadzone w ramach tej współpracy wykazało wpływ bortezomibu na profil metylacji DNA. Zjawisko to może być związane z rozwojem oporności na ten lek.
3. Współpraca z Uniwersytetem w Rostocku  
Obecnie Habilitantka prowadzi badania we współpracy z tym ośrodkiem mające na celu poznanie mechanizmów patogenezы szpiczaka plazmocytozy i jego progresji z gammapatią monoklonalną i szpiczaka tłęcego do pełnoobjawowego szpiczaka plazmocytozy.
4. Współpraca z Instytutem Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu

Habilitantka realizacja we współpracy z Instytutem Genetyki Człowieka projekt badawczy „Weryfikacja hipotezy stresu oksydacyjnego, apoptozy i czynnika immunologicznego jako mechanizmów odpowiedzialnych za niską jakość nasienia u mężczyzn narażonych na szok temperaturowy jąder”.

5. Współpraca z Zamiejscowym Wydziałem Kultury Fizycznej w Gorzowie Wielkopolskim Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu  
Były to wieloletnie badania przeprowadzone na grupie sportowców których celem było określenie wpływu suplementacji spiruliną, L-teaniną oraz ekstraktem z traganika na ochronę przed deficytem funkcji immunologicznych (zwłaszcza funkcji przeciw infekcyjnej) związanej z forsownymi ćwiczeniami.
6. Habilitantka brała udział w badaniach prowadzonych przez interdyscyplinarne zespoły badawczych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Badania te dotyczyły następujących zagadnień
  - a/ Zastosowania populacji liniowo-negatywnych komórek macierzystych (Lin-) i progenitorowych w innowacyjnych działaniach adjuwantowych u chorych na stwardnienie zanikowe boczne
  - b/ Zaprojektowania nanokapsuły przenoszącej neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego
  - c/ Określenia roli czynników immunologicznych i angiogennych w patogenezie porodów przedwczesnych
  - d/ Roli czynników angiogennych, immunologicznych i miRNAs w rozwoju zwyrodnienia plamki żółtej związanej z wiekiem.
  - e/ Patogenezy odpowiedzi immunologicznej w aknate mebozie
  - f/ Mechanizmów epigenetycznych w patogenezie chorób
  - g/ Roli procesów regeneracyjnych i zapalnych w rozwoju chorób psychicznych
  - h/ Wpływu adiponektyny na patogenezę reumatoidalnego zapalenia stawów
  - i/ Charakterystyki populacji macierzystych komórek CD34+
  - j/ Wpływu hormonu wzrostu na hematopoezę i apoptozę komórek CD34+

Habilitantka aktywnie uczestniczy w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Jest autorką 9 prac prezentowanych na tych konferencjach i współautorką 23 streszczeń zjazdowych.

Doktor Łuczowska aktywnie uczestniczy w pracach badawczych prowadzonych w ramach grantów naukowych.

Uczestniczyła ona w następujących grantach

1. Grant Narodowego Centrum Nauki Miniatura 2021/05/X/NZ5/00614, „Rola witamin 25(OH)D i VK2 MK-7 w patogenezie szpiczaka plazmocytozy oraz rozwoju lekooporności.”, kierownik projektu, termin zakończenia 11.2022.
2. Grant Regionalnej Inicjatywy Doskonałości finansowany przez MEiN 002/RID/2018/19 „Ocena sekretomu, metabolomu i zmian epigenetycznych w patofizjologii szpiczaka plazmocytozy”, wykonawca
3. Grant Narodowego Centrum Nauki OPUS 2016/23/N/NZ7/03363; wykonawca, termin zakończenia 2021. „Rola neurotrofin oraz cytokin angiogennych w patofizjologii neuropatii obwodowej u chorych w przebiegu szpiczaka plazmocytozy”.
4. Grant Narodowego Centrum Nauki HARMONIA 2012/06/M/NZ4/00133; wykonawca, termin zakończenia 2016. „Innowacyjna strategia diagnostyki, profilaktyki i adjuwantowej terapii wybranych schorzeń neurodegeneracyjnych w populacji polskiej”
5. Grant Narodowego Centrum Nauki OPUS 2012/07/B/NZ5/02498; wykonawca, termin zakończenia 2016. „Terapia komórkowo - genowa jako nowa strategia protekcji komórek fotoreceptorowych - ocena mechanizmów regeneracyjnych w schorzeniach zwyrodnieniowych siatkówki oka”.



6. Grant Ministerstwa Edukacji i Szkolnictwa Wyższego N N402 467539; wykonawca, termin zakończenia 2014. „Wpływ hormonu wzrostu na proces regulacji ludzkiej hematopoezy”
7. Projekt realizowany przez Konsorcjum NeOStem – finansowany przez Agencję Badań Medycznych (2020/ABM/01/00014). Okres realizacji: 01.01.2021 - 31.12.2025 „Innowacyjne zastosowanie komórek macierzystych oraz biokompatybilnych polielektrolitowych nanocząstek uwalniających neurotrofiny w leczeniu adjuwantowym chorób neurodegeneracyjnych”. – wykonawca
8. Projekt finansowany przez Agencję Badań Medycznych (2020/ABM/covid19/0059), projekt zakończony w 2022 roku: „Ocena odpowiedzi humoralnej w populacji narażonej na kontakt z wirusem SARS CoV 2: implikacje kliniczne, epidemiologiczne oraz organizacyjne w zakresie opieki zdrowotnej”. – wykonawca
9. Projekt realizowany przez Konsorcjum NeuStemGen - współfinansowany ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu „Profilaktyka i leczenie chorób cywilizacyjnych - STRATEGMED" (STRATEGMED1/234261/2/NCBR/2014; 2014-2018), projekt zakończony w 2019 roku „Innowacyjna strategia diagnostyki, profilaktyki i adjuwantowej terapii wybranych schorzeń neurodegeneracyjnych w populacji polskiej" — wykonawca
10. Interreg VA (2014-2020): "Konsolidacja współpracy transgranicznej poprzez wymianę wiedzy i umiejętności w zakresie nowoczesnych metod hematologii i onkologii doświadczalnej oraz klinicznej" — wykonawca

Podsumowując należy stwierdzić, iż Habilitantka ma duży dorobek naukowy, jest autorką 39 prac o łącznym współczynniku IF=188.140 i MEiN=3920.

Sumaryczny IF publikacji doktor Łuczowskiej (poza cyklem publikacji w ramach osiągnięcia naukowego) wynosi 170.976; MEiN=3400.

Przed uzyskaniem stopnia doktora opublikowała 22 prace w tym 3 jako pierwszy autor, IF=101,197, MEiN = 1870.

Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka opublikowała 12 artykułów w dwóch z nich była pierwszym autorem IF=69.779, MEiN=1530

#### **4. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.**

Habilitantka prowadzi seminaria, ćwiczenia praktyczne i wykłady z Patofizjologii dla studentów III roku kierunku Lekarskiego i II roku kierunku Lekarsko-Dentystycznego oraz dla kierunków Pielęgniarstwo, Położnictwo, Ratownictwo Medyczne, Kosmetologia, Biotechnologia, Fizjoterapia, Analityka Medyczna. Prowadzi również praktyczne zajęcia z Terapii Komórkowej dla studentów II roku Biotechnologii. Opiekuje się studentami odbywającymi praktyki studenckie i bierze czynny udział w prowadzeniu koła naukowego w Zakładzie Patologii Ogólnej PUM. W 2021 roku nagrała cykl 5 wykładów o tematyce patofizjologicznej, które udostępniane są studentom PUM w ramach zajęć e-learningowych.

W latach 2018, 2019, 2021, 2022 prowadziła zajęcia z zakresu Patofizjologii w ramach studiów niestacjonarnych dla kierunków Analityka Medyczna oraz Pielęgniarstwo

#### **5. Nagrody otrzymane przez Habilitantkę.**

W trakcie dotychczasowej pracy Habilitantka w uznaniu swoich dokonań naukowych otrzymał kilka ważnych nagród.

1. W trakcie studium doktoranckiego doktor Łuczowska otrzymała nagrodę Rektora PUM dla najlepszych doktorantów w roku akademickim 2017/2018.
2. W 2020 roku została laureatką Stypendium Naukowego Prezydenta Miasta Szczecin
3. W 2021 roku otrzymała Nagrodę Prezesa Rady Ministrów za wyróżniającą się rozprawę doktorską.
4. W 2022 roku została laureatką Nagrody Zaufania „Złoty Otis” w kategorii Debiut Naukowy oraz stypendystką Kapituły Nagrody Zaufania.

Reasumując stwierdzam, że cały publikowany dorobek Habilitantki jest merytorycznie istotny, obszerny, nowatorski i zróżnicowany. Był dobrze opublikowany i związku z tym jest często cytowany,

co uzasadnia stwierdzenie, że dostatecznie opanowała ona nowoczesny warsztat naukowy, co umożliwia samodzielne prowadzenie badań, a także kierowanie takimi badaniami i ocenę dorobku naukowego innych osób.

Biorąc pod uwagę zamieszczoną wyżej ocenę osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku naukowego, a także osiągnięć dydaktycznych i organizacyjnych, stwierdzam, że doktor nauk medycznych Karolina Łuczkowska spełnia kryteria wymagane w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego wymienione w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018, poz. 1668 z późn. zm.) Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, określone w art. 219 ust. 1 pkt 1-3.

W związku z powyższym wnoszę do Komisji habilitacyjnej w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego doktor Karoliny Łuczkowskiej do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o podjęcie uchwały o nadaniu doktor nauk medycznych Karolinie Łuczkowskiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Z poważaniem  


Kierownik  
Kliniki Onkologii i Chorób Piersi  
Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego

*dr hab. n. med. Tadeusz Pieńkowski, prof. CMKP*