

## Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Mileny Matuszczak

pt.: „Stężenie cynku i miedzi oraz ich stosunek we krwi jako markery ryzyka rozwoju nowotworów u nosicielek mutacji w genie *BRCA1*” w związku z powierzeniem obowiązku recenzenta przez Radę Naukową Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Rozprawa doktorska lek. Mileny Matuszczak została przygotowana pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Jana Lubińskiego w Zakładzie Genetyki i Patomorfologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Rozprawa obejmuje dwa artykuły naukowe, których Doktorantka jest pierwszą autorką wraz omówieniem. Rozprawa została przedstawiona na 140 stronach.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy:

- 1) **Matuszczak M**, Kiljańczyk A, Marciniak W, Derkacz R, Stempa K, Baszuk P, Bryskiewicz M, Sun P, Cheriyan A, Cybulski C, Dębniak T, Gronwald J, Huzarski T, Lener MR, Jakubowska A, Szwiec M, Stawicka-Niełacna M, Godlewski D, Prusaczyk A, Jasiewicz A, Kluz T, Tomiczek-Szwiec J, Kilar-Kobierzycka E, Siołek M, Wiśniowski R, Posmyk R, Jarkiewicz-Tretyn J, Scott RJ, Narod SA, Lubiński J. Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers. *Antioxidants (Basel)*. 2024 May 16;13(5):609. doi: 10.3390/antiox13050609. 100 pkt. ministerialnych, IF 6,0.
- 2) **Matuszczak M**, Kiljańczyk A, Marciniak W, Derkacz R, Stempa K, Baszuk P, Bryskiewicz M, Cybulski C, Dębniak T, Gronwald J, Huzarski T, Lener M, Jakubowska A, Szwiec M, Stawicka-Niełacna M, Godlewski D, Prusaczyk A, Jasiewicz A, Kluz T, Tomiczek-Szwiec J, Kilar-Kobierzycka E, Siołek M, Wiśniowski R, Posmyk R, Jarkiewicz-Tretyn J, Scott R, Lubiński J. Antioxidant Properties of Zinc and Copper-Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers. *Antioxidants (Basel)*. 2024 Jul 14;13(7):841. doi: 10.3390/antiox13070841. 100 pkt. ministerialnych, IF 6,0.

Doktorantka, lek. Milena Matuszczak jest pierwszą autorką obydwu prac, łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 12, a liczba punktów ministerialnych 200, co stanowi znaczące osiągnięcie. Recenzent uznaje niniejszą rozprawę za bardzo dobrą, stanowiącą kontynuację tematyki realizowanej przez Autorkę w zespole, który od wielu lat zajmuje się badaniem wpływu różnych pierwiastków, w tym metali ciężkich na występowanie nowotworów.

Zagadnienia przedstawiane przez Doktorantkę lek. Milenę Matuszczak są mi bardzo bliskie, ponieważ mam bardzo szeroki wgląd w tematykę realizowaną w zespole prof. dr hab. Jana Lubińskiego. Przedstawiona do oceny rozprawa stanowi doskonale rozwinięcie prac określających występowanie potencjalnych zależności między wybranymi pierwiastkami, a wzrostem lub obniżeniem ryzyka zachorowania na raka. Rozprawa doktorska powstała w wyniku realizacji programu „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego na lata 2019-2022 (grant numer 002/RID/2018/19) jak również *Peter Gilgan Foundation Tour de Bleu* i *Estée Lauder Companies*.

W pierwszym artykule Doktorantka skupiła się na możliwości wykorzystania oceny poziomu cynku we krwi jako markera ryzyka raka u nosicielek mutacji genu *BRCA1*. Punkt wyjściowy to właściwości przeciwutleniające cynku i ochrona komórek przed stresem oksydacyjnym. Działanie przeciwnowotworowe cynku wiąże się również z regulacją naprawy DNA, ekspresji genów i apoptozą. Badaniom poddano 989 kobiet, nosicielek mutacji w genie *BRCA1*, która zwiększa ryzyko zachorowania na raka piersi i jajnika. Kobiety, zdrowe w momencie rozpoczęcia badań, obserwowano przez średnio 7,5 roku, wykrywając 172 przypadki raka, w tym 121 raków piersi, 29 raki jajnika i 22 przypadki raka w innych lokalizacjach. Do oznaczenia zawartości pierwiastków wykorzystano technikę spektrometrii mas z plazmą sprzężoną indukcyjnie (ang. *inductively coupled plasma excitation mass spectrometry*, ICP-MS). Wstępne badania nie potwierdziły związku między poziomem cynku w surowicy a ryzykiem rozwoju raka, w tym raka piersi u nosicielek mutacji *BRCA1*. Poziom cynku w najniższym tercylu wiązał się z umiarkowanie wyższym ryzykiem raka jajnika w porównaniu do kobiet z poziomem cynku w dwóch górnych tercylach (HR = 1,65; 95% CI 0,80 do 3,44;  $p = 0,18$ ), ale nie stanowiło to wartości statystycznie znaczących. Wskazano potrzebę dalszych badań i włączenie grupy kobiet z innymi mutacjami. Praca została opublikowana w *Antioxidants* 16 maja 2024 r., była cytowana czterokrotnie (wg WoS), 100 pkt. ministerialnych, IF 6,0.

Drugi artykuł dotyczył określenia właściwości antyoksydacyjnych cynku i miedzi poprzez ocenę stosunku ilościowego cynku do miedzi we krwi jako markera ryzyka raka u nosicielek mutacji *BRCA1*. Doktorantka wskazała na istotne znaczenie równowagi tych dwóch pierwiastków we krwi w utrzymaniu homeostazy redoks. Próbkę krwi analizowano za pomocą spektrometrii mas z plazmą sprzężoną indukcyjnie dla 989 kobiet. Doktorantka nie zaobserwowała znaczących zależności indywidualnych poziomów cynku i miedzi z ogólnym ryzykiem zachorowania na raka. Wykazała jednak, że stosunek Zn/Cu powyżej 6,38 wiązał się ze znacznie niższym ryzykiem zachorowania na raka niż ze stosunkiem poniżej tego punktu

odcienia. Powyższe dane mogą wskazywać, że stosunek Zn/Cu może być cennym biomarkerem w profilaktyce raka w tej grupie wysokiego ryzyka. Biorąc pod uwagę zwiększone ryzyko zachorowania na raka u nosicielek mutacji *BRCA1*, optymalizacja poziomów Zn i Cu poprzez dietę i aktywne interwencje może stanowić strategię zapobiegawczą. Praca została opublikowana w *Antioxidants* 14 lipca 2024 r., była cytowana trzykrotnie (wg WoS), 100 pkt. ministerialnych, IF 6,0.

Wyniki uzyskane przez lek. Milenę Matuszczak mimo braku znaczącej istotności statystyczne cieszą się bardzo dużym zainteresowaniem, o czym świadczy liczba cytowań.

Rozprawa doktorska zawiera główne elementy wchodzące w skład pracy promocyjnej i obejmuje: spis treści, wykaz stosowanych skrótów, notę informacyjną, wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie wyników, 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.

W Celu rozprawy Doktorantka uzasadnia wybór oceny stężeń cynku i miedzi oraz ich stosunku wobec ryzyka zachorowania na nowotwór u kobiet, nosicielek mutacji w genie *BRCA1* w badaniach prospektywnych. Poszukiwanie potencjalnych markerów ryzyka wystąpienia nowotworu u nosicielek mutacji w genie *BRCA1* uważam za bardzo ambitne.

W Podsumowaniu wyników lek. Milena Matuszczak odniosła się indywidualnie do poszczególnych stężeń cynku i miedzi oraz do stosunku ilościowego cynku i miedzi w odniesieniu do korelacji z ryzykiem zachorowania na nowotwór. Istotność statystyczna związana była ze stosunkiem Zn/Cu powyżej 6,38, zmniejszając 1,5 krotnie ryzyko zachorowania na jakikolwiek nowotwór (współczynnik ryzyka 1,48; przedział ufności 1,07-2,04; prawdopodobieństwo 0,018).

Doktorantka przedstawiła pięć wniosków, które należy uznać za bardzo ważne i jednocześnie bardzo przyszłościowe, wymagają one jednak dalszych badań. Zwróciła uwagę na zróżnicowany udział czynników poza genetycznych na rozwój wybranych nowotworów w zależności od podłoża genetycznego, tym samym na większy wpływ stężenia analizowanych pierwiastków na rozwój raka jajnika niż raka piersi.

Doktorantka sugeruje możliwość optymalizacji stężeń pierwiastków poprzez odpowiednią dietę jak również suplementację jako ważnego czynnika ograniczającego występowanie nowotworów w różnych grupach wysokiego ryzyka. Odnosi się również do konieczności dalszej kontynuacji badań modyfikatorów wystąpienia nowotworów w grupach

wysokiego ryzyka w odniesieniu do innych pierwiastków oraz opracowania modyfikacji diety albo suplementacji o potencjalnym działaniu profilaktycznym.

Doktorantka wskazuje na możliwość wykorzystania uzyskanych badań stężeń i stosunków pierwiastków do wsparcia wyboru zabiegów profilaktycznych. W końcowym wniosku sugeruje optymalizację zakresów stężeń pierwiastków, metody ich modyfikacji oraz kontynuację długoterminowych badań na większych, międzynarodowych kohortach.

Podsumowanie oraz wnioski są zgodne z celem rozprawy, chociaż wydają się bardziej rozbudowane niż można by oczekiwać na podstawie założonych celów.

Ośrodek szczeciński od wielu lat zajmuje się badaniami nowotworów i posiada olbrzymie doświadczenie w prowadzeniu szeroko zakrojonych badań przesiewowych. Wprowadza również nowe cele badawcze obejmujące między innymi badania pierwiastków i ich wpływu na ryzyko rozwoju nowotworów, ale jednocześnie zwracając uwagę na pojawienie się możliwości profilaktyki, włączając dietę i stosowanie suplementów. Zaletą niniejszej rozprawy, powstałej w znamienitym ośrodku jest wykorzystanie grup badawczych o dużej liczebności, które mogą być analizowane prospektywnie z zastosowaniem pojawiających się nowych metod badawczych. Poruszanie nowych wyzwań w zespole prof. Lubińskiego wiąże się z realizacją kolejnych publikacji i powstawania ważnych rozwiązań, które w przyszłości mogą wejść do rutynowego postępowania.

Podczas obrony rozprawy proszę o ustosunkowanie się do następujących zagadnień. Czym Doktorantka sugerowała się przy wyborze pierwiastków do analizy? Dlaczego skupiono się na stosunku cynku i miedzi? Jakie inne pierwiastki mogą modyfikować stres oksydacyjny? Czy prowadzono badania dla osób pochodzących z terenów o zwiększonej ekspozycji na metale, np. z okolic hut miedzi? W jakiej formie cynk i miedź występują w organizmie? Czy badanie tylko krwi – materiał najłatwiej dostępny – nie ogranicza informacji o całkowitej zawartości wybranych pierwiastków? Czy wybrana metoda badawcza - spektrometrii mas z plazmą sprzężoną indukcyjnie jest najbardziej optymalna?

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 lek. Milenie Matuszczak. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - 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 cynku i miedzi oraz ich stosunku jako potencjalnych markerów ryzyka wystąpienia nowotworu u nosicielek mutacji *BRCA1*, zgłaszam wniosek o wyróżnienie rozprawy *summa*

*cum laude*. Rozprawa spełnia kryteria regulaminowe, opublikowanie wyników rozprawy w czasopismach z IF o szerokim międzynarodowym zasięgu: 1) **Matuszczak M**, Kiljańczyk A, Marciniak W, Derkacz R, Stempa K, Baszuk P, Bryskiewicz M, Sun P, Cheriyan A, Cybulski C, Dębniak T, Gronwald J, Huzarski T, Lener MR, Jakubowska A, Szwiec M, Stawicka-Niełacna M, Godlewski D, Prusaczyk A, Jasiewicz A, Kluz T, Tomiczek-Szwiec J, Kilar-Kobierzycka E, Siólek M, Wiśniowski R, Posmyk R, Jarkiewicz-Tretyn J, Scott RJ, Narod SA, Lubiński J. Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers. *Antioxidants (Basel)*. 2024 May 16;13(5):609. doi: 10.3390/antiox13050609. 100 pkt. ministerialnych, IF 6,0. 2) **Matuszczak M**, Kiljańczyk A, Marciniak W, Derkacz R, Stempa K, Baszuk P, Bryskiewicz M, Cybulski C, Dębniak T, Gronwald J, Huzarski T, Lener M, Jakubowska A, Szwiec M, Stawicka-Niełacna M, Godlewski D, Prusaczyk A, Jasiewicz A, Kluz T, Tomiczek-Szwiec J, Kilar-Kobierzycka E, Siólek M, Wiśniowski R, Posmyk R, Jarkiewicz-Tretyn J, Scott R, Lubiński J. Antioxidant Properties of Zinc and Copper-Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers. *Antioxidants (Basel)*. 2024 Jul 14;13(7):841. doi: 10.3390/antiox13070841. 100 pkt. ministerialnych, IF 6,0.

Lek. Milena Matuszczak jest pierwszą autorką obydwu prac, łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 12, a liczba punktów ministerialnych 200, co uważam za bardzo duże osiągnięcie uzasadniające wniosek o wyróżnienie rozprawy *summa cum laude*. Na uwagę zasługuje również fakt, że tematyka poruszana przez Doktorantkę cieszy się dużym zainteresowaniem o czym świadczą cytowania, które pojawiły się tuż po opublikowaniu prac.



Poznań, 9.12.2024 r.

Prof. dr hab. n. med. Ryszard Słomski