

**dr hab. Marek Foksiński, prof. UMK**

ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz

tel.: (52) 585-37-45, (52) 585-37-51

e-mail: marekf@cm.umk.pl



**Recenzja**

Bydgoszcz, 21.06.2024 r.

Dotycząca postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitacyjnego Pani dr n. med. Edyty Kasperczyk (Wieczorek) w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu na podstawie osiągnięcia naukowego pt.

**„Genetyczne markery ryzyka wystąpienia i wznowy raka pęcherza moczowego.”**

**I. Sylwetka Habilitantki**

Dr Edyta Kasperczyk jest absolwentką kierunku biotechnologii Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej gdzie w 2005 roku uzyskała tytuł magistra. Stopień naukowy doktora nauk medycznych uzyskała w Instytucie Medycyny Pracy w Łodzi w Zakładzie Toksykologii i Kancerogenezy w 2017 roku, a tytuł rozprawy doktorskiej to „Rola wybranych metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej i tkankowych inhibitorów metaloproteinaz w raku pęcherza moczowego”

Pracę naukową Habilitantka rozpoczęła w 2008 roku na stanowisku asystenta technicznego w Instytucie Medycyny Pracy w Łodzi w Zakładzie Toksykologii i Kancerogenezy. W tym samym Zakładzie poprzez kolejne lata do 2017 roku, pracowała kolejno na stanowisku specjalisty inżynierijno-technicznego, starszego specjalisty i asystenta. Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowała prace w Instytucie w Zakładzie Genetyki Molekularnej i Epigenetyki na stanowisku adiunkta. Od 2021 roku jest adiunktem w Zakładzie Badań Translacyjnych. Praktycznie całe doświadczenie zawodowe związane jest z pracą w Instytucie Medycyny Pracy w Łodzi. Dodatkowym wątkiem była praca w latach 2020-2021 jako starszy specjalista ds. biologii medycznej w Sieci Badawczej Łukasiewicza.

**II. Ocena osiągnięć naukowych stanowiących podstawę habilitacji o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)**

W skład prac stanowiących osiągnięcie naukowe, zatytułowane „Genetyczne markery ryzyka wystąpienia i wznowy raka pęcherza moczowego”, Autorka włączyła 6 prac o łącznej punktacji IF= 22,5 (pkt MNiSW/MEiN=610) i około 100-krotnie cytowanych (wg Web of Science). Prace dotyczą spójnej tematycznie grupy badań opisujących znaczenie i możliwości wykorzystania molekularnych markerów oraz wybranych genetycznych czynników ryzyka wystąpienia raka pęcherza moczowego i jego wznów. Na powyższy cykl prac składają się 3 prace oryginalne i 3 prace przeglądowe. W 5 pracach Habilitantka jest pierwszym autorem, a w 4 z nich również autorem korespondencyjnym. Część autoreferatu dotycząca omówienia

treści zawartych w cyklu publikacji poprzedza obszerny wstęp wprowadzający do zagadnienia i uzasadniający podjęcie tematu.

Przedstawione są w nim informacje dotyczące patofizjologii raka pęcherza moczowego, jego diagnostyki oraz genetycznych markerów diagnostycznych i prognostycznych, w których uzupełnienie wpisują się badania zawarte w publikacjach stanowiących prezentowany cykl.

Wobec powyższego sformułowano cel naukowy osiągnięcia będącego podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, którego istotą było: *sprawdzenie znaczenia domniemanych molekularnych biomarkerów ryzyka wystąpienia i wznowy raka pęcherza moczowego poprzez zbadanie ekspresji genów kodujących enzymy antyoksydacyjne (oryginalna publikacja H1), enzymy cytoprotekcyjne wpływające na status redoks (oryginalna publikacja H3), czy ekspresja genów antygenów niezbędna do prezentacji ich nowotworowym komórkom T w połączeniu z genotypowaniem (oryginalna publikacja H5).*

Dość nietypowym elementem badawczym są prace przeglądowe dotyczące: *dotychczasowej wiedzy w zakresie genetycznych markerów ryzyka wystąpienia i wznowy raka pęcherza moczowego tj. mRNA, miRNA i lncRNA (publikacja przeglądowa H2), ekspresji genów cząsteczki głównego układu zgodności tkankowej klasy I oraz elementy przetwarzania i prezentacji tego antygeny (publikacja przeglądowa H4) a także wiedzy dotyczącej interakcji pomiędzy genami a narażeniem zawodowym w ryzyku zachorowania na raka pęcherza moczowego (publikacja przeglądowa H6).*

Warsztat metodyczny dobrze dobrany poprzez zastosowanie odpowiednich technik. Do oceny ekspresji genów zastosowano powszechnie stosowaną technikę qRT-PCR z odpowiednio dobranymi starterami i genami referencyjnymi. Aktywność enzymów oznaczano metodami spektrometrycznymi a oznaczenia poziomu uszkodzeń DNA wykonano z wykorzystaniem testu kometowego, wykrywającego pęknięcia nici DNA i miejsca nietrwale w alkaliach. Genotypowanie wykonano za pomocą LightCycler96 Real-Time PCR System (Roche Diagnostics) przy użyciu TaqMan® natomiast niektóre parametry osoczowe mierzono techniką immunochemiczną ELISA. Są to powszechnie stosowane metody biologii molekularnej, choć nie zawsze należą do najbardziej optymalnych.

W badaniu "*Different Gene Expression and Activity Pattern of Antioxidant Enzymes in Bladder Cancer*" przeprowadzono ocenę roli i wkładu enzymów antyoksydacyjnych w etiologii raka pęcherza moczowego (BC) oraz nawrotach po resekcji transuretalnej guza (TURBT). W badaniu wzięło udział 40 pacjentów z BC, którzy przeszli TURBT, oraz 100 zdrowych osób kontrolnych w tym samym wieku i płci. Analizę przeprowadzono w momencie diagnozy i nawrotu, uwzględniając czas nawrotu. Wykazano, że ekspresja genów katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej 1 (GPX1) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD2) była istotnie wyższa u pacjentów z BC w momencie diagnozy w porównaniu z grupą kontrolną. U pacjentów, u których nawrót wystąpił wcześniej niż 1 rok po TURBT, wykazano niższą ekspresję CAT i SOD2 (w momencie diagnozy  $p=0,024$  i  $p=0,434$ , w momencie nawrotu  $p=0,022$  i  $p=0,010$ ), a także wyższą aktywność GPX1 i GPX3 (w momencie diagnozy  $p=0,242$  i  $p=0,394$ , w momencie nawrotu  $p=0,019$  i  $p=0,025$ ) w porównaniu z pacjentami, u których nawrót wystąpił po 1 roku od TURBT. Wyniki sugerują, że niska ekspresja CAT może przyczyniać się do nawrotu BC we wczesnym okresie. Wykazano, że ekspresja genów enzymów antyoksydacyjnych jest zróżnicowana u pacjentów z rakiem pęcherza moczowego w

zależności od czasu nawrotu. W szczególności ekspresja genu CAT może być istotna w przewidywaniu nawrotu BC na wczesnym etapie choroby, tj. w momencie pierwszej diagnozy.

W pracy *“mRNA, microRNA and lncRNA as novel bladder tumor markers”* (Clinica Chimica Acta, 2018) autorzy analizowali nowe markery raka pęcherza moczowego, takie jak mRNA, miRNA i lncRNA. Wykorzystano metodę ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (qRT-PCR) do analizy ekspresji genów i profilu epigenetycznego w moczu, krwi i tkankach. Kombinacja tych biomarkerów może poprawić dokładność diagnozy i prognozy raka pęcherza moczowego. Ważne jest, aby uwzględnić różnice w ekspresji genów i epigenetycznych u pacjentów z tą chorobą. Połączenie patologii molekularnej i profilowania ekspresji (panel mRNA, miRNA i lncRNA) może być szczególnie przydatne w analizie różnych podtypów tego nowotworu

W badaniu *“Dysregulation of Redox Status in Urinary Bladder Cancer Patients”* przeprowadzono analizę zmian stanu redoks u pacjentów z rakiem pęcherza moczowego. Badanie obejmowało 122 pacjentów i 115 osób kontrolnych. Odkryto, że status redoks we krwi pacjentów z rakiem pęcherza moczowego jest istotnie zaburzony. Wykazano wyższe poziomy oksydacyjnych uszkodzeń DNA u pacjentów w porównaniu z osobami kontrolnymi. Poziomy seleniu w osoczu były również istotnie obniżone u pacjentów z rakiem pęcherza moczowego. Analizowano także ekspresję genów związanych z ochroną komórek, takich jak NRF2, GCLC, MMP9, PRDX1 i SRXN1. Wykazano, że zmniejszona ekspresja PRDX1 i SRXN1 może być istotnym predyktorem nawrotu raka pęcherza moczowego. Wyniki te sugerują, że szlak KEAP1/NRF2/ARE, synteza selenoprotein oraz aktywacja szlaku epigenetycznego mogą stanowić obiecujące cele terapii i profilaktyki tego rodzaju nowotworu. Jednak rola NRF2 w etiologii i nawrotach raka pęcherza moczowego wymaga dalszych badań. Wiarygodność testowanych biomarkerów stanu redoks musi zostać potwierdzona w większych badaniach klinicznych i epidemiologicznych.

W publikacji *“Recurrent Bladder Cancer in Aging Societies: Importance of Major Histocompatibility Complex Class I Antigen Presentation”* (International Journal of Cancer, 2021) omówiono hipotezę badawczą, zgodnie z którą wystąpienie raka pęcherza moczowego może być bezpośrednio związane z nieskuteczną odpowiedzią immunologiczną występującą w procesie starzenia. W szczególności zwrócono uwagę na rolę kompleksu antygenów głównego układu zgodności tkankowej klasy I (MHC klasy I) w procesie prezentacji antygenów raka pęcherza moczowego. Przegląd literatury wykazał, że utrata ekspresji MHC klasy I w raku pęcherza moczowego może prowadzić do nawrotu choroby po transuretralnej resekcji oraz braku odpowiedzi na immunoterapię. W pracy omówiono różne strategie mające na celu wzmocnienie prezentacji antygenów MHC klasy I limfocytom T CD8<sup>+</sup> w leczeniu raka pęcherza moczowego. Analiza poziomów ekspresji MHC klasy I oraz obecności komórek układu odpornościowego w tkance nowotworowej może dostarczyć cennych informacji prognostycznych dotyczących skuteczności transuretralnej resekcji raka pęcherza moczowego oraz dodatkowej immunoterapii

W badaniu *“Genetic contributions of MHC class I antigen processing and presentation pathway to bladder cancer risk and recurrence”* (Neoplasma, 2022) zbadano związek między polimorfizmami pojedynczego nukleotydu (SNP) w genach ERAP1, ERAP2, TAP1, TAP2, TAPBP i IFNG a ekspresją odpowiadających im mRNA w raku pęcherza moczowego. Szlak przetwarzania i prezentacji antygenów MHC klasy I (APP) jest kluczowy dla odpowiedzi

immunologicznej przeciwko nowotworom. Badanie wykazało, że SNP w genach TAPBP i IFNG były związane z ryzykiem wystąpienia raka pęcherza moczowego oraz przeżyciem bez nawrotu. Dodatkowo, obniżona ekspresja TAPBP w tkance nowotworowej sugeruje jej potencjalną rolę w patogenezie tego nowotworu. Nowe techniki oparte na genetyce mogą pomóc w opracowaniu bardziej kompleksowych metod diagnostyki i terapii tego schorzenia.

W publikacji *“Gene-occupation interactions: a review of the literature on bladder and prostate cancer”* (Medycyna Pracy, 2023) autorzy podsumowali obecne dowody dotyczące genetycznych czynników ryzyka oraz narażenia zawodowego związanego z występowaniem raka pęcherza moczowego i raka gruczołu krokowego. Chociaż rola genetycznych czynników w narażeniu zawodowym nie jest ostatecznie ustalona, istnieje możliwość ich zaangażowania. Określenie genów reagujących na środowisko ma ważne implikacje mechanistyczne dla etiologii nowotworów zawodowych i może pomóc w ustalaniu dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego, uwzględniając podatność genetyczną. Warto jednak pamiętać, że szeroko zakrojone badania genetyczne w miejscu pracy są ograniczone ze względów etycznych i społecznych. Obecnie nie zaleca się przeprowadzania badań genetycznych na dużą skalę w miejscu pracy. Niemniej jednak, w przyszłości polimorfizmy genetyczne mogą stanowić ważny czynnik w profilaktyce nowotworów poprzez kontrolowanie dawek narażenia.

Podsumowując, przedstawiony w wniosku habilitacyjnym cykl publikacji zawiera wyniki badań dotyczących genetycznych markerów ryzyka wystąpienia i wznowy raka pęcherza moczowego. Nowe metody biologii molekularnej pozwalają na badanie funkcjonalności wariantów genetycznych w kontekście ryzyka raka pęcherza. Obecnie stosowane metody diagnostyczne mają swoje ograniczenia, dlatego poszukiwane są czułe, specyficzne i nieinwazyjne markery. Badania nad genetycznymi markerami raka pęcherza moczowego są niezwykle ważne dla praktyki klinicznej. Habilitantka wykazała wiele interesujących związków między polimorfizmem genetycznym a ryzykiem wystąpienia i wznowy tego rodzaju raka. Wartość tych badań polega na potencjalnym zastosowaniu tych markerów w przyszłości, aby lepiej zarządzać leczeniem i dostosować je do indywidualnych potrzeb pacjentów. Czekam z niecierpliwością na dalsze badania dr Edyty Kasperczyk i rozwój w tej dziedzinie.

### III. Ocena pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych

Dodatkowe osiągnięcia Habilitantki wpisują się w badania z zakresu analiz badań genetycznych w trzech obszarach:

a) praca zmianowa wśród pielęgniarek i położnych oraz narażenie na sztuczne światło w nocy mogą wpływać na metylację DNA. Oto kilka kluczowych wniosków z tych badań:

- słaba jakość lub długość snu może wpływać na poziom 5-metylocytozyny w regionach promotorowych genów związanych z rytmem okołodobowym, takich jak PER1, PER2, PER3, BMAL1, CLOCK, CRY1, CRY2 i NPAS2
- zarówno system pracy (np. praca zmianowa) jak i chronotyp są ważnymi czynnikami, które należy uwzględnić w analizach dotyczących skutków niedoboru snu
- brak związku między pracą nocną a metylacją genów BRCA1 i BRCA2

- obserwowano związek między krótszym czasem snu a wyższym poziomem metylacji w regionie promotora genu *CDKN2A* u pielęgniarek i położnych pracujących w trybie dziennym.
  - wykazano zróżnicowaną metylację genów *PER1*, *PER2* i *BMAL1* u pielęgniarek i położnych pracujących w systemie zmianowym.
- b) badania nad molekularnymi markerami stanu globalnej metylacji DNA w depresji. Kluczowe wnioski z tych badań:
- biomarkery stanu globalnej metylacji DNA mogą być związane z różnymi chorobami psychicznymi, w tym depresją
  - profilowanie ekspresji genów może pomóc w diagnostyce różnicowej epizodów depresyjnych
  - szlak Ras-GEF wpływa na skuteczność leczenia pacjentów z dwubiegunową depresją
  - poziom metylacji receptorów melatoniny może być użytecznym uzupełniającym markerem molekularnym w diagnostyce depresji
- c) geny okołodobowe mogą odgrywać ważną rolę w rozwoju i progresji raka. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że:
- ekspresja genów *PER1*, *PER2*, *PER3*, *CRY2* jest znacznie obniżona, podczas gdy geny *CLOCK*, *TIMELESS* ulegają nadekspresji w guzie w porównaniu z próbkami nienowotworowymi
  - ekspresja genów *CRY2*, *PER1*, *PER2* istotnie obniżona w guzach piersi ER/PR-ujemnych w porównaniu z guzami ER/PR-dodatnimi
  - ekspresja genów *CRY2*, *NPAS2* obniżona w guzach słabo zróżnicowanych w porównaniu z dobrze i średnio zróżnicowanymi
  - status metylacji może być związany z poziomem ekspresji genów okołodobowych u pacjentów z rakiem piersi

Efektom badań w tych dodatkowych obszarach badawczych Habilitantki są 22 publikacje, których sumaryczny Impact Factor wynosi 73,1, a punktacja MNiSW i MEiN wynosi 1590.

Całkowity dorobek Pani dr Kasperczyk to 37 prac oryginalnych i 9 prac przeglądowych o zasięgu międzynarodowym o łącznym IF = 139,6. Prace Habilitantki były cytowane 787 razy (bez autocytowań), Wskaźnik Hirscha – wg Web of Science H=17. Dodatkowo jest autorem lub współautorem 50 doniesień naukowych na 19 konferencjach krajowych i 31 międzynarodowych.

#### IV. Ocena pozostałych aktywności naukowo-organizacyjnych

- a) Aktywność w ośrodku badań nad zdrowiem i na uczelniach zagranicznych
  - Pobyt szkoleniowy na The School of Oncology w Albufeira (16.10-20.10.2017 r.)
  - Pobyt szkoleniowy na Uniwersytecie w Mediolanie (10-27.05.2022 r.)
  - Pobyt szkoleniowy na Uniwersytecie w Brukseli (29.08-16.09.2022 r.)
- b) Udział w projektach: granty polsko-norweskie (PNRF), Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSzW), Narodowego Centrum Nauki (NCN), Program Badań Stosowanych (PBS), Narodowy Program Zdrowia (NPZ), Program Operacyjny

Innowacyjna Gospodarka (POIG) z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (NCBR), programu Unii Europejskiej tj. Horyzont 2020, European Human Biomonitoring Initiative.

- c) Współpraca z ośrodkami zagranicznymi: National Institute of Occupational Health, Department of Chemical and Biological Work Environment z Oslo, School of Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Chiny oraz z jednostkami naukowymi z Włoch, Austrii, Francji, Szwecji, Chin czy Pakistanu.
- d) Osiągnięcia organizacyjne: członek Komisji Wyborczej do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Pracy w roku 2018, przewodniczący Komisji Wyborczej do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Pracy w latach 2021-2023.
- e) Przynależność do Towarzystw Naukowych, redakcjach czasopism: członek Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego, w latach 2020-2021 członek zespołu redakcyjnego czasopisma Journal of Clinical Medicine i jako Guest Editor w Special Issue „Circadian Genes and Lifestyle-Related Cancer”, Zastępca Redaktor Naczelnej - członek zespołu redakcyjnego czasopisma Medycyna Pracy.
- f) Członkostwo w komitecie naukowym Rady Naukowej Instytutu Medycyny Pracy imienia prof. dra med. Jerzego Nofera na lata 2021 – 2025.
- g) Recenzent w międzynarodowych czasopismach z bazy JCR – 93 recenzje
- h) Osiągnięcia dydaktyczne i popularyzacja nauki: prowadzenie staży i praktyk laboratoryjnych organizowanych przez Instytut Medycyny Pracy w laboratorium Zakładu Genetyki Molekularnej i Epigenetyki dla studentów kierunków: biotechnologia, mikrobiologia, biologia molekularna, genetyka lub pokrewne, realizacja materiałów filmowych, akcje promocji zdrowia i wykłady popularyzatorskie.
- i) Udział w zespołach eksperckich: ekspert w Urzędzie Marszałkowskim Województwa Podkarpackiego, Urzędzie Marszałkowskim Województwa Zachodniopomorskiego, Sieci Badawczej Łukasiewicz – Instytut Technik Innowacyjnych EMAG, Łódzkiej Specjalnej Strefie Ekonomicznej S.A. (ŁSSE) i Polskiej Agencji Rozwoju Przedsiębiorczości (PARP).

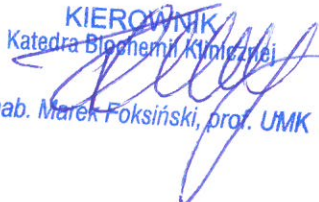
Podsumowując tą część aktywności dr Edyty Kasperczyk, pragnę podkreślić jej dojrzałość naukową potwierdzoną dużą aktywnością w obszarze realizacji projektów, współpracy zagranicznej oraz udziałem w gremiach recenzenckich oraz eksperckich.

## V. Podsumowanie

W oparciu o przedstawione dane w Autoreferacie oraz w załączonej dodatkowej dokumentacji, pragnę podkreślić bardzo dużą aktywność naukową Habilitantki. Cykl publikacji będących podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego pt. „Genetyczne markery ryzyka wystąpienia i wznowy raka pęcherza moczowego” jest opracowaniem, które znacząco wpływa na rozwój dyscypliny naukowej nauki o zdrowiu.

W oparciu o ocenę zbioru prac stanowiących osiągnięcie naukowe, pozostałego dorobku naukowego oraz działalności naukowo-organizacyjnej stwierdzam, że dr Edyta Kasperczyk spełnia wymogi dotyczące ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego określone w art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. 2021, poz. 478 z późn.zm.). Wnoszę zatem do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Pracy

im. Prof. dra Jerzego Nofera w Łodzi wniosek o dopuszczenie dr n. med. Edytę Kasperczyk do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu.

KIEROWNIK  
Katedra Biochemii Klinicznej  
  
dr hab. Marek Foksiński, prof. UMK