

Gliwice, 27.03.2025

Prof. dr hab. n. fiz. Krzysztof Ślosarek
Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej – Curie,
Państwowy Instytut Badawczy
Oddział Gliwice

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Mariki Musielak
„ Analiza odpowiedzi biologicznej komórek nowotworowych piersi
na promieniowanie protonowe
z uwzględnieniem mikrośrodowiska guza”

Rozprawa doktorska pani mgr Mariki Musielak *„Analiza odpowiedzi biologicznej komórek nowotworowych piersi na promieniowanie protonowe z uwzględnieniem mikrośrodowiska guza”* spełnia wymogi Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym”, art. 187, dlatego wnoszę do Kapituły Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu o umożliwienie pani mgr Marice Musielak rozpoczęcie dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.

Uzasadnienie

Recenzowana rozprawa doktorska porusza bardzo ważne zagadnienie związane z terapią promieniowaniem jonizującym: odpowiedzi komórek nowotworowych na promieniowanie protonowe, co bardzo istotne, z uwzględnieniem mikrośrodowiska guza. Dlaczego badania prowadzone w tej dziedzinie są ważne?. Ponieważ w radioterapii promieniowaniem jonizującym powszechnie stosowanym w praktyce klinicznej jest promieniowanie fotonowe. Terapia z wykorzystaniem promieniowania protonowego jest prowadzona od wielu dekad. Pomimo, że z punktu widzenia fizyki promieniowania można mówić o wyższości protonoterapii nad fotonoterapią, to praktyka kliniczna nie potwierdza „spektakularnych” korzyści jakie wynikają z różnic w rozkładach dawek fizycznych. Dlatego badania biologiczne, odpowiedzi komórek na promieniowanie protonowe są ważne. Ale co ważniejsze, Doktorantka nie ograniczyła się w swoich badaniach „tylko” do komórek nowotworowych. Analizowała również wpływ mikrośrodowiska guza nowotworowego na odpowiedź biologiczną komórek nowotworowych poddanych działaniu promieniowania protonowego. Słusznie zauważyła, że odpowiedź komórek nowotworowych jest uzależniona od środowiska biologicznego w jakim się znajdują. Rozkład dawki w funkcji głębokości promieniowania protonowego, charakteryzuje się pikiem Bragga, którego położenie jest związane z energią promieniowania. Niestety szerokość tego pików, jest niewystarczająca dla pokrycia jednorodną dawką całej objętości guza nowotworowego. Dlatego stosuje się różne energie promieniowania protonowego, w recenzowanej pracy od 60 do 226 MeV, aby „poszerzyć” pik Bragga. Jest on superpozycją pików Bragga dla różnych energii. I tu pojawia się kolejny, radiobiologiczny problem. Największa względna skuteczność biologiczna promieniowania protonowego znajduje się w obszarze pików Bragga. To jest podstawowy powód dla którego uważa się, że promieniowanie protonowe powinno być stosowane w praktyce klinicznej: komórki, tkanki zdrowe przed i za pikiem Bragga są uszkodzane znacznie mniej niż w jego obszarze. Jednak złożenie pików Bragga, stosując różne energie, w celu pokrycia jednorodną dawką objętości guza nowotworowego, nie jest jednoznaczne z jednorodną względną skutecznością biologiczną w tej objętości. To zagadnienie jest również analizowane w przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej.

Reasumując, Doktorantka w swojej pracy badawczej poruszyła i analizowała dwa ważne zagadnienia związane z wpływem promieniowania protonowego na odpowiedź komórek związaną a:

- mikrośrodowiskiem guza nowotworowego;
- względną skutecznością biologiczną w obszarze „poszerzonego” piku Bragga.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska składa się z cyklu czterech publikacji stanowiących jednolitą całość, związaną z badaniami odpowiedzi biologicznej komórek nowotworowych na promieniowania protonowe.

Dorobek naukowy Doktorantki

Dorobek naukowy pani mgr Mariki Musielak stanowi 20 artykułów naukowych, których Doktorantka jest współautorem, o sumarycznej wartości IF = 54,097, wskaźnik Hirscha 6. Punktacja MNiSW 1650. Cytowanie prac – 138.

Aktywność naukowa

Pani mgr Marika Musielak, jest osobą bardzo aktywną w zakresie prowadzenia pracy badawczej. Jako studentka fizyki medycznej, w roku 2018, przygotowując pracę licencjacką przeprowadziła badania w zakresie wpływu mocy dawki promieniowania jonizującego na komórki raka piersi. Była wykonawczynią dwóch projektów badawczych finansowanych przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Badania, które prowadziła związane były z wpływem promieniowania jonizującego oraz wpływem obecności nanocząstek złota na komórki nowotworowe. Uzyskane wyniki były podstawą do obrony pracy magisterskiej *„Rola nanocząstek złota w odpowiedzi komórek nowotworowych oraz prawidłowych prostaty na promieniowanie jonizujące – model in vitro”*, którą obroniła w 2020 roku. Doktorantka kontynuowała badania w tej tematyce realizując grant badawczy, finansowany przez Wielkopolskie Centrum Onkologii *„Funkcjonalizowane nanocząstki złota jako środek uwrażliwiający komórki nowotworowe piersi oraz komórki prawidłowe nabłonka gruczołu sutkowego na promieniowanie jonizujące – model in vitro”* oraz w Dużym Grancie Badawczym pt. *„Rola funkcjonalizacji oraz rozmiaru nanocząstek złota w odpowiedzi komórek nowotworowych piersi na promieniowanie jonizujące – model in vitro 2D i 3D”*. Pani mgr Musielak uczestniczyła aktywnie w 8 ogólnopolskich i 8 międzynarodowych konferencjach. Zajęła pierwsze miejsce za prezentację ustną na International Congress of Young Medical Scientists oraz w czasie pierwszej otwartej sesji Szkoły

Doktorskiej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Wygrała również konkurs na stanowisko doktoranta w projekcie OPUS finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki (NCN) pt. *„Indywidualna odpowiedź biologiczna guza w raku piersi na promieniowanie protonowe w zależności od czynników molekularnych i mikrośrodowiska”*. Wynikiem badania była analiza modelu biologicznego mikrośrodowiska nowotworu piersi. Doktorantka określiła również zależność odpowiedzi na promieniowania protonowe na różnych głębokościach osi wiązki promieniowania.

Reasumując, aktywność naukowa pani mgr Mariki Musielak jest ponadprzeciętna i koncentruje się na bardzo jednorodnym zagadnieniu badawczym. Konsekwentnie wprowadzając do badań nowe elementy. Należy zaznaczyć, że badania dotyczą dwóch zagadnień, zjawisk, które mają wpływ na efekty prowadzonej terapii. Zjawiska te, w dotychczasowych badaniach nie znajdowały się w sferze zainteresowania badaczy. Wpływ mikrośrodowiska guza nowotworowego na odpowiedź komórek nowotworowych na promieniowania jonizujące jest nie do pominięcia w analizie wpływu promieniowania jonizującego na prawdopodobieństwo powodzenia prowadzonej terapii. Drugie zagadnienie dotyczące wpływu głębokości na efekty związane z podaniem promieniowania protonowego jest problemem, który może mieć wpływ na dotychczasowe wyniki kliniczne protonoterapii. Połączenie tych dwóch zagadnień, przez Doktorantkę w jeden cykl badań jest niewątpliwie związane z dużym wyczuciem badacza.

Analiza pracy i uwagi merytoryczne

Recenzowana praca jest zbiorem czterech publikacji. Wspólnym mianownikiem *„była ocena odpowiedzi radiobiologicznej ustalonych linii raka piersi oraz pierwotnych linii komórkowych tworzących guz nowotworowy na promieniowanie protonowe oraz określenie związku odpowiedzi biologicznej z czynnikami molekularnymi i mikrośrodowiskowymi u chorych z rakiem piersi.”*

W pierwszej pracy: “Future Perspectives of Proton Therapy in Minimizing the Toxicity of Breast Cancer Radiotherapy”, Doktorantka przedstawiła dane literaturowe leczenia wiązką protonów nowotworów piersi z ostatnich 20 lat. Rozkłady dawek wskazują na redukcję efektów ubocznych związanych ze zdarzeniami kardiologicznymi. Równocześnie potwierdzona została potrzeba prowadzenia prac w celu poznania

czynników modyfikujących odpowiedź na promieniowania protonowe, ponieważ fizyczny rozkład dawki jest niewystarczającą informacją związaną z planowaniem leczenia i jego indywidualizacją.

Druga praca „Biological heterogeneity of primary cancer-associated fibroblasts determines the breast cancer microenvironment”, dotyczy opracowania przez Doktorankę metodologii izolacji komórek tworzących mikrośrodowisko guza nowotworowego piersi. Celem badania była izolacja komórek tkanki guza nowotworowego piersi wraz z jego charakterystykę fenotypu. Doktorantka stwierdziła, że obecność niektórych białek może mieć wpływ na oporność na prowadzoną terapię promieniowaniem jonizującym. Wykonane badania nie wykazały również różnic w poziomach ekspresji fibroblastów związanych z nowotworem, podzielonych na podtypy molekularne tkanki guza.

W trzeciej publikacji „Heterogeneity in biological response of MDA-MB-231 cells after proton irradiation along different parts of the depth-dose curve: before, within, and behind the Bragg peak”, pani mgr Musielak przeprowadziła badania związane z odpowiedzią radiobiologiczną komórek raka piersi w funkcji głębokości dla monoenergetycznej wiązki promieniowania protonowego. Zastosowano wiązkę promieniowania protonowego, o energiach od 60 do 226 MeV. Jest to zagadnienie bardzo ważne, ponieważ różnica w rozkładzie dawki w funkcji głębokości dla wiązki fotonowej i protonowej jest „postawą” do stwierdzenia, że promieniowanie protonowe pozwala na obliczenie korzystniejszych, z punktu widzenia terapii, rozkładów dawek. Należy jednak pamiętać, że to efekty biologiczne, generowane na podstawie efektów fizycznych są istotne dla prawdopodobieństwa miejscowego wyleczenia i powikłań po leczeniu. Dlatego badanie tych efektów jest bardzo ważne. Doktorantka zaobserwowała, że przeżywalność komórek maleje wraz z większą głębokością (w osi wiązki). Porównała przeżywalność komórek na tych samych głębokościach dla wiązek fotonowych i protonowych. Wykonała również analizę ekspresji genów i nie zauważyła różnicy pomiędzy komórkami napromienianymi na różnej głębokości wzdłuż krzywej Bragga.

Przeprowadzone badania wykazały, że za pikiem Bragga istnieje większe prawdopodobieństwo indukowania większej liczby podwójnych pęknięć DNA niż przed

pikiem lub w pikie Bragga. Bardzo ważnym wynikiem, jaki uzyskała Doktorantka w tej pracy jest stwierdzenie że *„nawet przy uzyskaniu jednorodnej dawki protonów w objętości tarczowej (guzie nowotworowym), odpowiedź biologiczna w całej objętości nowotworu może być zróżnicowana, co może stanowić kluczową informację przy planowaniu radioterapii protonowej.”*

Czwarta praca, stanowiąca dysertację „Impact of Proton Irradiation Depending on Breast Cancer Subtype in Patient-Derived Cell Lines”, dotyczy oceny odpowiedzi radiobiologicznej mikrośrodowiska guza. Doktorantka badała wpływ skanowanej wiązki protonów na odpowiedzi radiobiologiczne linii nowotworowych i fibroblastów skórnych. Oceniała radiowrażliwość pomiędzy różnymi molekularnymi podtypami raka piersi. Doktorantka, w swoich badaniach wskazała, że odpowiedź radiobiologiczna różnych typów nowotworów może być związana z reakcją komórek mikrośrodowiska na promieniowanie protonowe. Co ważne, wyniki potwierdzają, że odpowiedź guza nowotworowego na promieniowanie nie jest związana tylko z eliminacją komórek nowotworowych, ale jest zależna również od czynników związanych z mikrośrodowiskiem guza nowotworowego.

Uwagi edytorskie

Recenzowana praca jest napisana bardzo starannie. Dotyczy to oczywiście pierwszych 35 stron recenzowanej pracy. Nie znalazłem potknięć językowych czy też stosowania zwrotów żargonowych.

Pytania do Doktorantki

1. Czy mogą istnieć różnice w odpowiedzi napromienianej objętości (guza nowotworowego) na promieniowanie dla aktywnej i pasywnej wiązki protonowej ?
2. Czy fakt, że w „poszerzonym” pikie Bragga istnieje niejednorodna odpowiedź radiobiologiczna komórek na promieniowanie może być wykorzystany w praktyce klinicznej ?