

Warszawa, 31.12. 2025.

Prof. dr hab. med. Włodzimierz Baranowski  
Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej  
Wojskowy Instytut Medyczny Państwowy Instytut Badawczy  
Warszawa

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu mgr Laury Szafron zatytułowanej **„Charakterystyka wariantów genetycznych wybranych genów supresorowych i onkogenów oraz metylomu guzów granicznych jajnika oraz wysoko i nisko zróżnicowanych raków jajnika”**

Badania z zakresu nauk podstawowych, a szczególnie biologii molekularnej i genetyki molekularnej, stanowią współcześnie kluczowy element medycyny translacyjnej. Związek ten jest szczególnie wyraźny w onkologii, gdzie sygnatura molekularna/genetyczna/epigenetyczna nowotworu wielokrotnie jednoznacznie przekłada się na leczenie i rokowanie. Spektakularnym przykładem z kilku ostatnich lat takiego związku są fundamentalne zmiany paradygmatu sposobów leczenia, klasyfikacji i rokowania dla pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy. Dla chorych z rakiem jajnika wciąż czekamy – wyrażam swoją opinię w imieniu klinicystów - na przełomowe odkrycia z zakresu biologii i genetyki molekularnej tej grupy nowotworów, a także uwarunkowane tymi odkryciami, nowe metody leczenia uzupełniającego, ponieważ pierwotne leczenie chirurgiczne nie zawsze jest możliwe, a w przypadkach operacyjnych (pierwotnych i wtórnych) osiągnęło pewne plateau swoich możliwości cytoredukcyjnych. W związku z powyższym jedyną nadzieją dla chorych na raka jajnika jest jak najszybsze poznanie zjawisk molekularnych istotnych z punktu widzenia możliwości zastosowania terapii systemowych, zgodnie z maksymą „ojca” biologii komórki Edmunda B. Wilsona który dokładnie sto lat temu (1925) stwierdził że „rozwiązania problemu biologicznego trzeba ostatecznie szukać w komórce, ponieważ każdy żywy organizm jest, lub w którymś momencie, był komórką”, a więc problem badawczy podjęty przez Doktorantkę jest niezwykle aktualny i doskonale

wpisuje się we współczesny nurt badań nad tymi wysoce skomplikowanymi i bardzo trudnymi klinicznie nowotworami.

Przedstawiona do oceny rozprawa jest spójną tematycznie kompilacją 3 publikacji opatrzonej wspólnym wstępem, zwięzłym omówieniem materiału badawczego z uwzględnieniem pewnych danych klinicznych, skróconym opisem metod badawczych, prezentacją wybranych istotnych wyników oraz dyskusją stanowiącą twórcze rozwinięcie problemu sygnatury molekularnej BOT-ów i raków jajnika. Formalne oświadczenia współautorów publikacji oraz zgoda Komisji Bioetycznej stanowią wprowadzenie formalne, ale konieczne uzupełnienie dysertacji.

#### **Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej**

1. **Szafron LA.**; Sobiczewski P.; Dansonka-Mieszkowska A.; Kupryjanczyk J.; Szafron LM., „*An Analysis of Genetic Polymorphisms in 76 Genes Related to the Development of Ovarian Tumors of Different Aggressiveness*”. **International Journal of Molecular Sciences** (2024), doi.org/10.3390/ijms252010876
2. **Szafron LA.**; Iwanicka-Nowicka, R.; Sobiczewski P.; Kobłowska M.; Dansonka-Mieszkowska A.; Kupryjanczyk J.; Szafron LM „*The diversity of methylation patterns in serous borderline ovarian tumors and serous ovarian carcinomas*”. **Cancers** (2024), doi.org/10.3390/cancers16203524
3. **Szafron, LA.**; Kupryjanczyk, J.; Szafron, LM “*Special Issue “Biomarkers and Early Detection Strategies of Ovarian Tumors”* (editorial). **International Journal of Molecular Sciences** (2025), doi.org/10.3390/ijms26189071

Z punktu widzenia recenzenta na szczególne podkreślenie zasługuje konstrukcja eksperymentów. Pierwszy element który chciałbym podkreślić to dobór rodzajów nowotworów jajnika. Doktorantka podjęła się ambitnego zadania analizy zjawisk molekularnych w trzech typach różnych klinicznie i morfologicznie guzów jajnika – nowotworów o granicznej złośliwości (ang. borderline ovarian tumors - BOTs), raków o wysokim stopniu zróżnicowania i klinicznie mniejszej złośliwości (ang. low grade ovarian cancer) i raków o niskim stopniu zróżnicowania histologicznego i wysokim stopniu klinicznej złośliwości (ang. high grade ovarian cancer). Dodatkowo grupę guzów o granicznej złośliwości podzieliła na te ze specyficzną mutacją w genie *BRAF* (BOT.V600E) i

bez tej mutacji. Czy było to zasadne – proszę o uzasadnienie w trakcie obrony tez doktoratu.

Drugi element istotny i cenny z punktu widzenia recenzenta to rodzaj badanych zmian molekularnych. Doktorantka dokonała analizy nie tylko przemyślanego, bazującego na danych z piśmiennictwa światowego, panelu wybranych genów i efektów tych zmian w postaci ekspresji produktów białkowych (Western blot), ale również pokusiła się o ocenę zmian epigenetycznych (metylomu) w postaci pomiaru stopnia (hipo)metylacji genomowego DNA. To było bardzo rozległe i ambitne zadanie, z którego Doktorantka wywiązała się bez zastrzeżeń.

Z punktu widzenia recenzenta klinicysty cenną informacją jest fakt, że warianty polimorficzne różnicują trzy grupy analizowanych guzów. Poza mutacjami w genach *TP53* i *BRCA1/2*, które istotnie częściej występowały w nisko zróżnicowanych rakach jajnika (hgOvCa), Doktorantka wykazała, że warianty polimorficzne w innych genach wydają się odgrywać ważną rolę w BOT (*BRAF*, *KRAS*) i w IgOvCa (*KRAS* i *NRAS*). Zjawiska tego nie obserwuje się w grupie guzów hgOvCa, co po raz kolejny dowodzi, że guzy graniczne i IgOvCa są ze sobą molekularnie spokrewnione, a to może przekładać się również na kliniczną ewolucję BOT w kierunku IgOvCa. Jest to cenna informacja zarówno dla ginekologa onkologa jak i dla onkologa klinicznego, pomocna w wyborze zakresu leczenia operacyjnego, monitorowania chorych i prognozowania przebiegu choroby. Ciekawe jest także zjawisko, wykazane przez Doktorantkę, częściej występujących mutacji w genach zaangażowanych w proces ubikwitynacji (*SEM1*, *FANCB*) zaobserwowane w grupie BOT.

Istotną, także klinicznie, obserwacją jest wyraźna różnica molekularna pomiędzy BOTs a hgOvCa. Przejawia się to istotnymi zmianami w genie *FANCI* w guzach hgOvCa, natomiast w BOTs jest to obecność SNP w genie *PARP1*. Ponadto zmiany *FANCI* i ekspresja białka *FANCI*, były związane ze statusem białek supresorowych *TP53* i *BRCA1/2*.

W zakresie badań metylomu Doktorantka stwierdziła kilka ciekawych i istotnych zjawisk. Najbardziej jednoznacznym zjawiskiem w zakresie zaburzeń epigenetycznych jest pogłębianie się hipometylacji genomu wraz ze wzrastającą kliniczną złośliwością guzów jajnika – najsilniej jest to wyrażone w hgOvCa. Ciekawą obserwacją jest zjawisko najmniejszych zaburzeń metylacji w guzach

BOT.V600E – istotnie różniące je pod tym względem od BOT bez tej mutacji, IgCaOv i hgCaOv.

Inne badanie Doktorantki dotyczące zmian epigenetycznych wykazało ciekawe zjawisko mogące oznaczać, że w IgOvCa inaktywacja genu supresora *TP53* dokonuje się przede wszystkim na drodze epigenetycznej, a nie w wyniku mutacji. Klinicznie i molekularnie ciekawym zjawiskiem jest fakt, że zmiany metylacyjne w genach związanych z układem odpornościowym, a tym samym mikrośrodowiskiem guza, najprawdopodobniej odgrywają kluczową rolę w transformacji guzów granicznych do IgOvCa. Ma o tym świadczyć obserwacja, że 10 najbardziej zmienionych DMR w BOT w porównaniu do IgOvCa, znajdowało się na 3,5-milionowym obszarze genomu na chromosomie 6 (region MHC). Dodatkowym poparciem dla tej tezy jest stwierdzenie w grupie BOTs zmian metylacyjnych w obrębie genu *IL34*, obecnego w immunosupresyjnej linii populacji makrofagów o akronimie TAM (ang. *tumor-associated macrophages*). Hipermetylacja DMRów w obrębie *IL34*, prowadząca do zmniejszenia ekspresji *IL34*, jest korzystnym czynnikiem predykcyjnym, zmniejszającym ryzyko powstania mikroinwazji i wszczepów guza. Wyniki badań Doktorantki wskazują również, że zmiany metylacyjne w wielu innych genach okazały się dobrymi markerami predykcyjnymi zarówno dla hgOvCa jak i dla BOTs lub prognostycznymi dla hgOvCa.

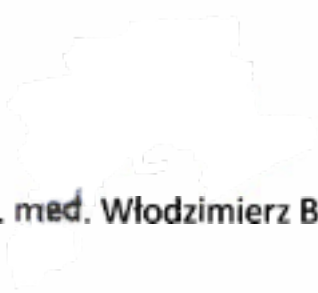
Z punktu widzenia recenzenta żałuję jednak, że tak dobre prace, oparte o nowoczesne metody i relatywnie duże grupy analizowanych pacjentek nie zostały opublikowane w bardziej prestiżowych czasopismach spoza grupy MDPI (Cancer Cell, Cancer Research, Cancer etc.)

### **Wnioski końcowe**

Doktorantka podjęła niezwykle interesujący i bardzo ważny z klinicznego i naukowego punktu widzenia temat badawczy, jednocześnie bardzo pracochłonny z uwagi na rozległość oraz skalę trudności metodyki badań. Efektem tej wyężonej i długotrwałej pracy są wartościowe publikacje składające się na interesującą dysertację doktorską. Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz.1668) i tym samym jest podstawą do ubiegania się o stopień

naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Jednocześnie wzięwszy pod uwagę wysoką wartość poznawczą, nowatorstwo i możliwości aplikacji klinicznych wyników pracy Doktorantki wnioskuję o wyróżnienie rozprawy. Przedkładam zatem Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie **mgr Laury Szafron** do dalszych części przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. ~~med.~~ Włodzimierz Baranowski

