

# AUTOREFERAT

dr n. med. Dorota Diakowska

Katedra i Klinika Chirurgii Przewodu Pokarmowego  
i Chirurgii Ogólnej

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich  
we Wrocławiu

Wrocław, 2015

**1. Imię i nazwisko**

Dorota Diakowska

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej**

2005	<b>Doktor nauk medycznych</b> w zakresie biologia medyczna, Wydział Lekarski Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, rozprawa doktorska pt. „Analiza frakcji lipidowych w przewlekłym zapaleniu trzustki po operacjach resekcyjnych i drenażowych trzustki”, promotor: Prof. dr hab. n. med. Witold Knast
1999	<b>Magister biologii</b> ze specjalnością biologia molekularna, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Wrocławski, praca magisterska pt. „Izolacja i częściowa charakterystyka inhibitora tripsyny z nasion brokułu”, promotor: Prof. dr hab. Tadeusz Wilusz

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych**

1999 – do chwili obecnej	specjalista naukowo-techniczny Laboratorium Naukowe Katedra i Klinika Chirurgii Przewodu Pokarmowego i Chirurgii Ogólnej Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
1991-1999	samodzielny biolog Instytut Biochemii i Biologii Molekularnej (obecnie Wydział Biotechnologii) Uniwersytet Wrocławski

**4. Wskazanie osiągnięcia naukowego uzyskanego po otrzymaniu stopnia doktora, wynikającego z art.16 ust.2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):****a) Tytuł osiągnięcia naukowego**

Zgodnie z treścią w/w ustawy, dołączonym do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego, osiągnięciem naukowym jest cykl powiązanych tematycznie prac

objętych wspólnym tytułem:

**„Parametry stresu oksydacyjnego i wybrane cytokiny jako biomarkery nowotworów przełyku, żołądka i jelita grubego”**

b) Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa):

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem siedmiu przedstawionych poniżej artykułów, opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR), o sumarycznym współczynniku **IF 13.882 (pkt. MNiSW/KBN: 157)**:

- 1) **Dorota Diakowska**, Andrzej Lewandowski, Waclaw Kopeć, Witold Diakowski, Teresa Chrzanowska: Oxidative DNA damage and total antioxidant status in serum of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Hepato-Gastroenterology* 2007 Vol.54 no.78; s.1701-1704.

**IF: 0.904; pkt. MNiSW/KBN: 15.000; liczba cytowań: 19** (wg *Web of Science* z dnia 04.09.2015 r.)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: udziale w zaplanowaniu badania, logistycznej koordynacji badania, gromadzeniu, opracowaniu i zabezpieczeniu materiału badawczego, wykonaniu wszystkich oznaczeń biochemicznych, analizie statystycznej danych, interpretacji i prezentacji wyników, wiodącym udziale w przygotowaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 80%.*

- 2) **Dorota Diakowska**, Małgorzata Krzystek-Korpacka, Andrzej Lewandowski, Krzysztof Grabowski, Witold Diakowski: Evaluation of 8-hydroxydeoxyguanosine, thiobarbituric acid-reactive substances and total antioxidant status as possible disease markers in oesophageal malignancies. *Clin.Biochem.* 2008 Vol.41 no.10-11; s.796-803.

**IF: 1.926; pkt. MNiSW/KBN: 32.000; liczba cytowań: 4** (wg *Web of Science* z dnia 04.09.2015 r.)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: udziale w zaplanowaniu badania, logistycznej koordynacji badania, gromadzeniu, opracowaniu i zabezpieczeniu materiału badawczego, wykonaniu wszystkich oznaczeń biochemicznych, udziale w analizie statystycznej danych, interpretacji i prezentacji wyników, wiodącym udziale w przygotowaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 70%.*

- 3) **Dorota Diakowska**, Krzysztof Grabowski, Mirosław Nienartowicz, Paweł Zarębski, Kamila Fudalej, Krystyna Markocka-Mączka.: Circulating oxidized low-density lipoproteins and antibodies against oxidized low-density lipoproteins as potential biomarkers of colorectal cancer. *Gastroenterol Research and Practice* 2015; 2015:146819. doi: 10.1155/2015/146819. Epub 2015 Mar 31.

**IF: 1.749; Pkt. MNiSW/KBN: 15.000; liczba cytowań: 0** (wg *Web of Science* z dnia 04.09.2015 r.)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu badania, logistycznej koordynacji badania, gromadzeniu, opracowaniu i zabezpieczeniu materiału badawczego, wykonaniu wszystkich oznaczeń biochemicznych, analizie statystycznej danych, interpretacji i prezentacji wyników, wiodącym udziale w przygotowaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 80%.*

- 4) **Dorota Diakowska**: Cytokines association with clinical and pathological changes in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis.Markers* 2013 Vol.35 no.6; s.883-893.

**IF: 2.174; Pkt. MNiSW/KBN: 25.000; liczba cytowań: 2** (wg *Web of Science* z dnia 04.09.2015 r.)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji tematu, opracowaniu piśmiennictwa, całkowitym przygotowaniu manuskryptu. Mój udział wyniósł 100%.*

- 5) **Dorota Diakowska**, Krystyna Markocka-Mączka, Mirosław Nienartowicz, Andrzej Lewandowski, Krzysztof Grabowski: Increased level of serum prostaglandin-2 in early stage of esophageal squamous cell carcinoma. *Arch.Med.Sci.* 2014 Vol.10 no.5; s.956-961.

**IF: 2.030; Pkt. MNiSW/KBN: 25.000; liczba cytowań: 0** (wg *Web of Science* z dnia 04.09.2015 r.)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu badania, logistycznej koordynacji badania, gromadzeniu, opracowaniu i zabezpieczeniu materiału badawczego, wykonaniu wszystkich oznaczeń biochemicznych, analizie statystycznej danych, interpretacji i prezentacji wyników, wiodącym udziale w przygotowaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 80%.*

- 6) **Dorota Diakowska**, Małgorzata Krzystek-Korpacka, Krystyna Markocka-Mączka, Witold Diakowski, Małgorzata Matusiewicz, Krzysztof Grabowski: Circulating leptin and inflammatory response in esophageal cancer, esophageal cancer-related cachexia-anorexia syndrome (CAS) and non-malignant CAS of the alimentary tract. *Cytokine* 2010 Vol.51 no.2; s.132-137.

**IF: 3.537; pkt. MNiSW/KBN: 20.000; liczba cytowań: 10** (wg *Web of Science* z dnia 04.09.2015 r.)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: udziale w zaplanowaniu badania, logistycznej koordynacji badania, gromadzeniu, opracowaniu i zabezpieczeniu materiału badawczego, wykonaniu wszystkich oznaczeń biochemicznych, interpretacji i prezentacji wyników, współudziale w przygotowaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 45%.*

- 7) **Dorota Diakowska**, Krystyna Markocka-Mączka, Piotr Szelachowski, Krzysztof Grabowski: Serum levels of resistin, adiponectin, and apelin in gastroesophageal cancer patients. *Dis.Markers* 2014; art.ID 619649 [8 s.]; DOI:10.1155/2014/619649. Epub 2014 Jun 24.

**IF: 1.562; Pkt. MNiSW/KBN: 25.000; liczba cytowań: 1** (wg *Web of Science* z dnia 04.09.2015 r.)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: zaplanowaniu badania, logistycznej koordynacji badania, gromadzeniu, opracowaniu i zabezpieczeniu materiału badawczego, wykonaniu wszystkich oznaczeń biochemicznych, analizie statystycznej danych, interpretacji i prezentacji wyników, wiodącym udziale w przygotowaniu manuskryptu. Mój udział szacuję na 85%.

Kopie powyższych publikacji oraz oświadczenia współautorów o indywidualnym wkładzie autorskim znajdują się w Załącznikach nr 5 i 6.

c) Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

### **Charakterystyka nowotworów przełyku, żołądka i jelita grubego**

Do nowotworów przewodu pokarmowego zalicza się raka przełyku, żołądka, jelita grubego oraz trzustki, wątroby i dróg żółciowych. Wczesne objawy w tej grupie nowotworów są często mało specyficzne, a późna diagnoza zmniejsza szanse na radykalną resekcję guza pierwotnego i obniża czas przeżycia chorych [1,2]. W Polsce, rak jelita grubego zajmuje 2 (mężczyźni) i 3 (kobiety) miejsce, rak żołądka – 4 (mężczyźni) i 6 (kobiety) miejsce, a rak przełyku 12 (mężczyźni) i 27 (kobiety) miejsce jako przyczyna śmierci z powodu nowotworu [3].

Wśród nowotworów przewodu pokarmowego rak przełyku o budowie płaskonabłonkowej charakteryzuje się jednym z najniższych wskaźników 5-letniego przeżycia w krajach Europy Wschodniej (6%) oraz Europy Zachodniej i USA (14-18%) [2]. Ogólnie złe rokowanie przeżycia u chorych z płaskonabłonkowym rakiem przełyku (*oesophageal squamous cell carcinoma*, ESCC) i rakiem gruczołowym wpustu typu II i III (*gastric cardia cancer*, GC) jest związane z faktem, że większość pacjentów ma zdiagnozowaną chorobę już w stadium zaawansowanym, gdy stwierdza się przerzuty regionalne lub/i odległe [4]. W przypadku ESCC silna ekspansywność choroby i obecność mikroprzerzutów wiąże się z brakiem surowicówki przełyku i bogatą siecią naczyń limfatycznych w błonie podśluzowej tego narządu [5]. W przypadku GC brakuje jasno sprecyzowanych czynników ryzyka związanych z budową anatomiczną żołądka. Występujące w tych przypadkach niespecyficzne objawy decydują o późnym rozpoznaniu choroby. W ponad połowie przypadków zdiagnozowanie choroby odbywa się w czasie, gdy stopień zaawansowania wyklucza leczenie operacyjne [1,5].

Głównymi czynnikami etiologicznymi płaskonabłonkowego raka przełyku są alkohol i nikotyna [1,7]. Stymulują one rozwój przewlekłego stanu zapalnego, powodują zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej, wpływają na destabilizację genomu, zmieniają aktywność enzymów, stymulują angiogenezę. W przypadku gruczołakoraka wpustu znaczący wpływ na rozwój nowotworu mają także: zakażenia *Helicobacter pylori*, żywność skażona substancjami karcynogennymi, choroba

refluksowa i otyłość [2]. Czynnikiem ryzyka zachorowania na raka jelita grubego są, obok zmian dysplastycznych nabłonka, również predyspozycje genetyczne, czynniki dietetyczne i wiek [2,6].

Rak jelita grubego (*colorectal cancer*, CRC) w większości przypadków jest gruczolakorakiem zbudowanym ze struktur cewkowych. Czynnikiem ryzyka w przypadku tego nowotworu jest występowanie polipowatości gruczolowej i przewlekłych stanów zapalnych (wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Leśniowskiego-Crohna) [2,6].

Resekcja guza nowotworowego jest podstawową metodą leczenia w rakach przewodu pokarmowego. Następujące po niej leczenie radio- i chemioterapią są metodami uzupełniającymi. O rozległości resekcji guza decydują wstępne badania kliniczne wykorzystujące techniki obrazowe: gastroskopia, pozytonowa tomografia emisyjna (PET), rezonans magnetyczny (MR), tomografia komputerowa (KT) i inne. Jednak czułość tych badań jest wciąż zbyt niska. W czasie zabiegu okazuje się często, że zmiana nowotworowa jest zbyt rozległa i nieoperacyjna. Dlatego istotne jest poszukiwanie nowych, nieinwazyjnych wskaźników biologicznych w surowicy, które mogłyby być pomocne w diagnostyce, różnicowaniu i prognozowaniu chorych z rakiem przełyku, żołądka i jelita grubego.

### **Wpływ przewlekłego procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego na mikrośrodowisko nowotworowe**

Dzięki nieograniczonemu potencjałowi replikacyjnemu, wydzielaniu czynników wzrostu, oporności na czynniki stymulujące apoptozę, zdolności do nieprawidłowej angiogenezy i limfangiogenezy, inwazji do sąsiednich tkanek i tworzenia przerzutów odległych, komórki nowotworowe zyskują niezależność i zdolność oddziaływania na prawidłowe komórki mikrośrodowiska guza [8,9]. W początkowej fazie rozwoju nowotworu komórki mikrośrodowiska: fibroblasty podścieliska, komórki śródbłonkowe, komórki odporności nieswoistej i swoistej oraz perycyty wydzielają szereg mediatorów, przeciwdziałających rozwojowi komórek raka. Jednak z czasem, pod wpływem cytokin i chemokin wydzielanych przez komórki nowotworowe, komórki odpowiedzi zapalnej ulegają fenotypowej transformacji, a wydzielane przez nie m.in. czynniki wzrostu oraz cytokiny prozapalne i proangiogenne stymulują reakcje prowadzące do przewlekłego stanu zapalnego i indukują procesy nieograniczonej proliferacji komórek nowotworowych [8-10]. Wydzielane mediatory mają również udział w progresji nowotworu: w tworzeniu nowych naczyń krwionośnych i limfatycznych, w inwazyjnym wzroście komórek raka i ich przerzutowaniu [10]. Wymienione procesy zachodzą szczególnie intensywnie w nowotworach pochodzenia nabłonkowego, a rak płaskonabłonkowy przełyku jest tego niewątpliwym przykładem [8,9]. Wykazano także istotny wpływ elementów mikrośrodowiska guza na rozwój i progresję gruczolakoraka wpustu [1,11].

W komórkach nowotworowych stwierdzono również występowanie ciągłego stresu oksydacyjnego, jednak mechanizmy jego powstania nie zostały do tej pory wyjaśnione. Przypuszcza się, że przewlekły stan zapalny, intensywny metabolizm komórek raka i ich niedotlenowanie oraz niestabilność genomu i mutacje DNA (głównie mitochondrialnego) prowadzą do rozwoju stresu oksydacyjnego [12,13]. Utrzymujący się stres oksydacyjny, definiowany jako zaburzenie równowagi

między czynnikami utleniającymi a wydajnością systemów antyoksydacyjnych, prowadzi do uszkodzenia makrocząsteczek komórkowych takich jak DNA, białka i lipidy [12,13].

Ostatnie badania genetyczne i z zakresu biologii molekularnej wykazały, że proces karcynogenezy jest złożony i wieloetapowy, a populacje komórek nowotworowych powstają zarówno na skutek nagromadzenia nieletalnych mutacji w organizmie, jak również na skutek zmian wewnątrzprzewodowych podścieliska łącznotkankowo-naczyniowego, stanowiącego zrąb guza nowotworowego [10-13]. Na poziomie molekularnym oznacza to pojawienie się zaburzeń w ekspresji wielu białek oraz nagromadzenie produktów oksydacyjnych modyfikacji makrocząsteczek. Substancje takie, wydzielane do krążenia przez komórki nowotworowe lub komórki mikrośrodowiska guza, mogą być potencjalnymi markerami nawet wczesnych stadiów rozwoju raka, a przy dalszej obserwacji mogą stać się czynnikami prognostycznymi w monitorowaniu leczenia pacjentów z rakiem. Biomarkery mogą być pomocne, obok badań obrazowych i histologicznych, przy ocenie stopnia zaawansowania raka i wyznaczaniu odpowiedniej terapii lekowej pacjenta.

### **Cel prac**

Celem zaprezentowanego osiągnięcia jest przedstawienie wyników z cyklu siedmiu publikacji, w których badano szereg krążących we krwi czynników pochodzenia białkowego, nukleotydowego i lipidowego pod kątem ich znaczenia i wykorzystania w klinice płaskonabłonkowego raka przełyku, raka połączenia przełykowo-żołądkowego i raka jelita grubego.

Oznaczenia badanych czynników w surowicy, erytrocytach i tkankach wykonywane były przy pomocy: komercyjnych zestawów immunoenzymatycznych testów ELISA, komercyjnych zestawów do badania aktywności enzymatycznej wybranych białek, testów diagnostycznych do badania stężeń frakcji lipidowych oraz innych kolorymetrycznych reakcji chemicznych. Badania prowadzone były w ramach badań własnych i działalności statutowej UM we Wrocławiu, i posiadały pozytywną ocenę Komisji Bioetycznej UM.

W wyniku oksydacyjnych uszkodzeń DNA dochodzi do naruszenia struktury zasad azotowych, deoxyrybozy, rozerwania wiązań fosfodiesterowych łączących nukleotydy i pęknięcia nici DNA czy tworzenia adduktów. Jednym z produktów modyfikacji zasad azotowych jest 8-oxy-7,8-dihydroguanina, która powoduje w obrębie DNA mutacje punktowe typu G:C → T:A czy G:C → C:G. Mutacje tego typu mogą następnie zwiększać ekspresję protoonkogenów komórkowych i liczbę powstających produktów mutagennych [13]. To właśnie 8-oxy-7,8-dihydroguanina i jej odpowiednik deoxynukleozydowy, 8-oxy-7,8-dihydro-2'-deoxyguanozyna są najczęściej badanymi produktami modyfikacji DNA. Podstawowym komórkowym mechanizmem obronnym skierowanym przeciwko wolnym rodnikom tlenowym jest system antyoksydantów enzymatycznych i nieenzymatycznych [12]. Do antyoksydantów enzymatycznych zalicza się: izoenzymy dysmutazy ponadtlenkowej, katalazę, peroksydazy glutationowe, transferazę i reduktazę glutationową oraz dehydrogenazę glukozo-6-fosforanową. Zaobserwowano, że komórki raka wykazują zmniejszoną aktywność wymienionych enzymów, a różnice te związane są nie tylko z typem nowotworu ale także ze stopniem zaawansowania raka [12,13].

W pilotażowym artykule nr 4.1 (Załącznik 1a/II. IA1): **Dorota Diakowska, Andrzej Lewandowski, Wacław Kopeć, Witold Diakowski, Teresa Chrzanowska.**: ***Oxidative DNA damage and total antioxidant status in serum of patients with esophageal squamous cell carcinoma.*** *Hepato-Gastroenterology* 2007 Vol.54 no.78; s.1701-1704 (IF: 0.904) przedstawiłam wyniki badań dotyczące zaobserwowanych zmian stężeń 8-hydrokso-deoxyguanozyny (8-OHdG) i zmian w poziomie całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS) w surowicy krwi u 18 pacjentów z ESCC leczonych operacyjnie. Wykazałam, że w grupie pacjentów z ESCC stężenia 8-OHdG były istotnie wyższe, a stężenia TAS – istotnie niższe niż w grupie osób zdrowych. Jako pierwsza na świecie zaobserwowałam zmianę stężenia krążącej w surowicy 8-OHdG po operacyjnym leczeniu pacjentów z rakiem przełyku pochodzenia płaskonabłonkowego. Analiza porównawcza próbek surowicy wykazała, że najwyższe stężenie tego parametru występowało przed leczeniem operacyjnym, po dwóch tygodniach od operacji (zabieg całkowitego lub częściowego usunięcia przełyku) stężenie 8-OHdG w surowicy ulegało obniżeniu, a po trzech miesiącach od operacji (próbka krwi pobrana przed zabiegiem wytworzenia przełyku zastępczego z uszypułowanej części jelita grubego) stężenie 8-OHdG miało wciąż tendencję istotnie malejącą. Moje badania potwierdziły wpływ procesów stresu oksydacyjnego i mechanizmów antyoksydacyjnych na rozwój i przebieg ESCC oraz pozwoliły na sugestię, że obserwacja zmienności stężeń 8-OHdG krążącej w surowicy może być pomocnym wskaźnikiem w praktyce klinicznej, przy monitorowaniu leczenia pooperacyjnego pacjentów z ESCC.

Ponieważ wyniki opisane w artykule 4.1. były obiecujące, prowadziłam dalej badania nad wykorzystaniem produktów stresu oksydacyjnego jako markerów w monitorowaniu leczenia pooperacyjnego pacjentów z ESCC. W kolejnym artykule nr 4.2 (Załącznik 1a/II. IA2): **Dorota Diakowska, Małgorzata Krzystek-Korpacka, Andrzej Lewandowski, Krzysztof Grabowski, Witold Diakowski.**: ***Evaluation of 8-hydroxydeoxyguanosine, thiobarbituric acid-reactive substances and total antioxidant status as possible disease markers in oesophageal malignancies.*** *Clin.Biochem.* 2008 Vol.41 no.10-11; s.796-803 (IF: 1.926). opisałam wyniki uzyskane z kontynuacji badań stężeń 8-OHdG i poziomu TAS w surowicy krwi w następujących grupach badanych: grupa 75 pacjentów z ESCC leczonych operacyjnie i paliatywnie, grupa 30 pacjentów z łagodnymi schorzeniami przełyku (przepuklina rozworu przełykowego, kurcz wpustu, choroba refluksowa przełyku) i grupa 79 osób zdrowych. Badania poszerzyłam także o ocenę stężeń markera peroksydacji lipidów – malonyldialdehydu (MDA) i innych substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w surowicy krwi w grupach badanych. Wykazałam, że stężenia krążących we krwi 8-OHdG i TBARS były istotnie wyższe, a poziomy TAS – istotnie niższe u pacjentów z ESCC w porównaniu z chorymi z łagodnymi schorzeniami przełyku i grupą kontrolną. Znamienne wyższy poziom TAS zaobserwowałam też w grupie osób zdrowych w porównaniu z osobami z nienowotworową chorobą przełyku. Wykazałam istotny wzrost stężenia krążącej 8-OHdG u pacjentów z ESCC, u których potwierdzono przerzuty raka do węzłów chłonnych. Badania parametrów oksydacyjnych i antyoksydacyjnych u 37 chorych z ESCC leczonych operacyjnie, wykonane przed zabiegiem resekcji i 3 miesiące po operacji potwierdziły, że 8-OHdG, a także TBARS i TAS mogą być potencjalnymi markerami pomocnymi przy pooperacyjnym monitorowaniu ESCC. Analiza ROC diagnostycznego potencjału badanych parametrów wykazała, że wysokie stężenia krążących 8-OHdG i TBARS oraz



obniżone poziomy TAS mogą być istotnymi wskaźnikami diagnostycznymi tego typu raka. Wszystkie uzyskane wyniki potwierdziły przypuszczenia o potencjalnym wpływie stresu oksydacyjnego na rozwój i progresję ESCC. Pozwoliły także na wykazanie, że szczególnie zmiany stężenia krążącej w surowicy 8-OHdG mają wysoką wartość diagnostyczną i różnicującą, sygnalizując limfangiogenezę w tym typie nowotworu.

Lipidy i lipoproteiny krwi wykazują wysoką podatność na uszkodzenia oksydacyjne podczas stresu oksydacyjnego [14]. W wyniku zachodzących reakcji peroksydacji, przekształceniu ulegają głównie lipidy wchodzące w skład lipoprotein o małej gęstości (*low density lipoprotein*, LDL), tworząc formy utlenione (oxLDL). Cząstki oxLDL mają zdolność nasilania stresu oksydacyjnego, stymulują wytwarzanie reaktywnych form tlenu, cytokin prozapalnych i biologicznie aktywnych cząsteczek o mutagennym działaniu [14-16]. Wykazano, że aterogenne oxLDL wpływają na dysfunkcję śródbłonna naczyń krwionośnych, indukują proces zapalny i przyspieszają tworzenie blaszki miażdżycowej [14].

oxLDL są rozpoznawane przez receptory makrofagów i specyficzne antygeny skierowane przeciwko oxLDL, zwane o-LAB [14-16]. Ze względu na posiadane właściwości przypuszcza się, że oxLDL i o-LAB mogą wpływać na procesy karcynogenezy, ale ich rola nie została do tej pory wyjaśniona. Ponieważ jednym z czynników ryzyka zachorowania na CRC jest nieprawidłowa gospodarka lipidowo-węglowodanowa i nadwaga [15-16], postanowiłam zbadać, czy stężenia poszczególnych frakcji lipidowych i lipoproteinowych oraz stężenia oxLDL i oLAB we krwi chorych z CRC będą różnić się względem grupy osób zdrowych. Wyniki badań przedstawiłam w publikacji nr 4.3 (Załącznik 1a/II. IA6): **Dorota Diakowska, Krzysztof Grabowski, Mirosław Nienartowicz, Paweł Zarębski, Kamila Fudalej, Krystyna Markocka-Mączka.: *Circulating oxidized low-density lipoproteins and antibodies against oxidized low-density lipoproteins as potential biomarkers of colorectal cancer.* Gastroenterol Research and Practice 2015; 146819. doi: 10.1155/2015/146819. Epub 2015 Mar 31. (IF: 1.749).** Aby zapewnić homogenność grup badanych, grupa osób zdrowych została dobrana pod względem płci i parametru masy ciała (*body mass index*, BMI) do grupy badanej. Moje badania wykazały, że stężenia triglicerydów, cholesterolu całkowitego, frakcji HDL i LDL cholesterolu, glukozy oraz oxLDL w surowicy nie różniły się w obu porównywanych grupach. Natomiast stężenia krążących o-LAB okazały się istotnie wyższe u chorych z CRC, szczególnie w podgrupie osób z rakiem na odcinku wstępnica-poprzecznicza. Grupa badana i kontrolna różniły się pod względem wieku. Aby uwzględnić wpływ tego parametru na stężenia o-LAB wykonałam szczegółowe badania statystyczne, które pokazały, że zarówno wiek, jak i o-LAB są niezależnymi wskaźnikami obecności raka. Dalsza analiza statystyczna danych wykazała jednak, że oba parametry w niewielkim stopniu związane były z szansą wystąpienia CRC.

Opublikowane w omawianym artykule wyniki moich badań, dotyczące istotności oznaczeń krążącego we krwi antygeny karcynoembrionalnego (*carcino-embryonic antigen*, CEA), są zgodne z wytycznymi opublikowanymi przez europejskie i amerykańskie towarzystwa na rzecz walki z rakiem [2,6]. Potwierdziłam, że CEA jest w obecnie najlepszym markerem prognostycznym (ale nie diagnostycznym) CRC, oznaczanym w surowicy krwi chorych z rakiem.

Jest to drugi na świecie artykuł, w którym wykazano zależności między stężeniami oxLDL i o-LAB a parametrami klinicznymi i histopatologicznymi pacjentów z CRC. Wykazałam, że najwyższe stężenia

obu czynników występowały u 12 pacjentów w początkowych stadiach rozwoju choroby (stopień rozwoju guza pierwotnego T1 i T2), jednak badania te wymagają dalszych analiz przeprowadzonych na większej grupie chorych.

Biorąc pod uwagę fakt, że stężenia o-LAB w surowicy są pochodną nie tylko ilości uwalnianych do krwi oxLDL, ale zależą także od innych modulatorów biologicznych i genetycznej kontroli ich wydzielania [14], sformułowałam końcowy wniosek sugerujący, że zmiany w stężeniach krążących w surowicy o-LAB mogą być wynikiem indywidualnych różnic w odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko CRC.

Praca w laboratorium naukowym kliniki chirurgicznej, w której znaczny procent osób leczonych operacyjnie stanowią pacjenci z rakami przewodu pokarmowego ukierunkowała moje zainteresowania badawcze na poszukiwanie innych czynników, które mogłyby zostać wykorzystane jako markery nowotworowe. W tej grupie szczególnie zainteresowały mnie markery białkowe.

Białkowych markerów nowotworowych poszukuje się wśród czynników związanych z regulacją cyklu komórkowego, regulacją transkrypcji, procesami przekazywania sygnału w komórce oraz apoptozą [17]. Wymienione 4 procesy zdają się odgrywać decydującą rolę w transformacji nowotworowej, inwazji i przerzutowaniu płaskonabłonkowego raka przełyku i raka połączenia przełykowo-żołądkowego [17,18]. Zainteresowanie budzą białka sekrecyjne, których stężenie można oznaczyć we krwi lub płynach ustrojowych, co jest metodą stosunkowo tanią i nieinwazyjną. Spośród markerów ESCC oznaczanych w surowicy krwi antygen karcynoembrionalny CEA, marker CA19-9 (CA19-9) i antygen raka płaskonabłonkowego (*squamous cell carcinoma antigen*, SCCA) są najczęściej wykorzystywane przy oznaczeniach wczesnego raka przełyku [19]. Jednakże czułość tych markerów jest niska, co ogranicza ich wykorzystanie w diagnostyce klinicznej wczesnego raka przełyku. Z tego powodu wciąż prowadzi się badania nad poszukiwaniem nowych biomarkerów, które z wysoką czułością i specyficznością pozwalałyby na wczesne wykrycie raka przełyku i raka wpustu. Brakuje także obiektywnych markerów raka przełyku, raka połączenia przełykowo-żołądkowego i raka żołądka, które byłyby pomocne przy ocenie prawdopodobieństwa zajęcia węzłów chłonnych, przy monitorowaniu podjętego leczenia, określeniu ryzyka nawrotu choroby czy prognozowaniu przeżycia.

Potencjalnymi biomarkerami ESCC i GC mogłyby być niektóre cytokiny, białka o niewielkich masach cząsteczkowych, przejawiające wysoką aktywność przy niskich stężeniach. Do rodziny cytokin zalicza się interleukiny, czynniki wzrostu, chemokiny, czynniki krwiotwórcze i inne. Odgrywają one istotną rolę w regulacji procesów komórkowych, w procesach zapalnych, w reakcjach układu odpornościowego [20,21]. Opis cyklu publikacji dotyczących badań nad znaczeniem cytokin prozapalnych i immunosupresyjnych w rozwoju i progresji ESCC i GC przedstawiłam w części 4.d tego opracowania, pt. *Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych*. Natomiast w podsumowującej te badania publikacji nr 4.4 (Załącznik 1a/II. IIIA1): **Dorota Diakowska: Cytokines association with clinical and pathological changes in esophageal squamous cell carcinoma. Dis. Markers 2013 Vol.35 no.6; s.883-893 (IF: 2.174)**, będącej pracą poglądową, zgrupowałam swoje i światowe wyniki badań nad powiązaniem między zmiennością stężeń cytokin oznaczanych w surowicy krwi (badania immunoenzymatyczne ELISA) i w tkankach (badania immunohistochemiczne i

metoda western blot) a parametrami klinicznymi i histopatologicznymi pacjentów z ESCC. W analizie porównawczej 49 badań, wyselekcjonowanych z początkowej grupy 805 artykułów, które zamieszczono w bazie PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) do marca 2013 roku włącznie wykazałam, że wysokie stężenia krążących we krwi białek z rodziny czynników wzrostu śródbłonna naczyniowego (*vascular epidermal growth factor*, VEGF): VEGF-A, VEGF-C i VEGF-D są wiodącymi wskaźnikami wczesnej obecności raka, angiogenezy i limfangiogenezy, obecności przerzutów odległych i przewidywania przeżycia chorych z ESCC. Badania immunoenzymatyczne i immunohistochemiczne wykazały, że wysoka ekspresja w tkankach i stężenie we krwi czynników takich jak: czynnik wzrostu hepatocytów (*hepatocyte growth factor*, HGF) i czynnik wzrostu fibroblastów  $\beta$  (*fibroblast growth factor-beta*, FGF- $\beta$ ) mogą być także markerami obecności ESCC, jednak nie we wczesnej fazie jego rozwoju. Natomiast wysokie stężenie czynnika wzrostu guza  $\beta$  (*tumour growth factor-beta*, TGF- $\beta$ ) w surowicy może wskazywać na obecność przerzutów do węzłów chłonnych i przerzutów odległych w tym typie nowotworu.

Wysoka ekspresja czynników proangiogennych, takich jak: VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, FGF- $\beta$ , TGF- $\beta$  i innych, wydzielanych przez komórki śródbłonna i makrofagi w obrębie mikrośrodowiska guza, jest związana z aktywacją wielu enzymów, w tym cyklooxygenazy-2 (*cyclooxygenase-2*, COX-2) [22]. COX-2 katalizuje przekształcanie kwasu arachidonowego w prostaglandyny i tromboksany [22]. Wydaje się, że jedna z prostaglandyn, prostaglandyna-2 (PGE-2) odgrywa szczególną rolę w stymulowaniu procesów wzrostu i inwazji komórek raka w ESCC. Chociaż potwierdzono związek nadekspresji COX-2 w komórkach guza z progresją ESCC [23], to rola PGE-2 jako markera nowotworowego w tym typie raka nie została określona. W artykule nr 4.5 (Załącznik 1a/II. IA4): **Dorota Diakowska, Krystyna Markocka-Mączka, Mirosław Nienartowicz, Andrzej Lewandowski, Krzysztof Grabowski.: Increased level of serum prostaglandin-2 in early stage of esophageal squamous cell carcinoma.** *Arch.Med.Sci.* 2014 Vol.10 no.5; s.956-961 (IF: 2.030) zbadalam potencjalną wartość diagnostyczną i różnicującą krążącej we krwi PGE-2 w ESCC. Badania zostały poszerzone o analizę porównawczą stężeń COX-2 w homogenatach tkankowych guza i odpowiadającej im tkance zdrowej. Wykazałam, że istotnie wyższe stężenia krążącej PGE-2 występują u chorych poniżej 60 roku życia i w początkowych stadiach ESCC (I i II stopień pTNM, progresja guza w stopniu pT1 i pT2, brak przerzutów do węzłów chłonnych i przerzutów odległych). U pacjentów z rakiem stwierdziłam również istnienie dodatkowej korelacji pomiędzy stężeniami COX-2 w tkance guza a stężeniami krążącej w surowicy PGE-2. Jednak wyniki uzyskane w ROC analizie nie okazały się w pełni satysfakcjonujące. Wysoka wartość punktu odcięcia i niska czułość metody wykazały, że PGE-2 nie jest w pełni akceptowalnym markerem diagnostycznym ESCC. Niewątpliwie jednak jest to czynnik związany z procesami wczesnego rozwoju tego typu raka.

Wykazano, że komórki białej tkanki tłuszczowej, adipocyty, mają zdolność wytwarzania i wydzielania wielu substancji zwanych adipokinami. Do adipokin zalicza się cytokiny (interleukinę-1beta (IL-1 $\beta$ ), interleukinę 6 (IL-6), interleukinę 8 (IL-8), czynnik martwicy guza  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )), czynniki wzrostu (VEGF, chemerynę, czynnik chemotaktyczny monocytów), enzymy (adipsynę) oraz hormony (leptynę, adiponektynę, rezystynę, apelinę, wisfatynę i inne). Działają one m.in. jako mediatory

przewlekłego stanu zapalnego, wpływają na uszkodzenie naczyń śródbłonka, stymulują rozwój i progresję nowotworów [24].

Leptyna jest białkiem o plejotropowym charakterze hormonu i cytokiny. Jako hormon działa centralnie na poziomie podwzgórza, zmniejszając apetyt i zwiększając zużycie energii. Może także działać obwodowo jako substancja endokrynną, regulator funkcji krwiotwórczych i reprodukcyjnych oraz jako immunomodulator. Natomiast działanie prozapalne leptyny polega na stymulacji wytwarzania innych cytokin prozapalnych, aktywacji monocytów i makrofagów, indukcji proliferacji limfocytów T naiwnych (Tn). Poprzez proangiogenne, promitotyczne i immunomodulujące własności leptyna uważana jest za istotny stymulator procesów inwazji i metastazy komórek nowotworowych [25].

Przypuszcza się że niektóre adipokiny, w tym leptyna, mogą być czynnikami wpływającymi na rozwój anoreksji i kacheksji nowotworowej. Pacjenci z nowotworami górnego odcinka przewodu pokarmowego bardzo często wykazują symptomy jadłowstrętu i niedożywienia, określane jako syndrom kacheksja-anoreksja [26,27]. Chociaż u ponad 80% osób z tym typem raka w chwili zdiagnozowania choroby stwierdza się również cechy wyniszczenia nowotworowego [27], jednak wciąż brak danych literaturowych, które mogłyby pomóc w określeniu czynników wpływających na rozwój kacheksji, a tym samym wyznaczyć kierunek do skutecznej walki terapeutycznej z tym zjawiskiem. W artykule nr 4.6 (Załącznik 1a/II. IA3): **Dorota Diakowska, Małgorzata Krzystek-Korpaczka, Krystyna Markocka-Mączka, Witold Diakowski, Małgorzata Matusiewicz, Krzysztof Grabowski. *Circulating leptin and inflammatory response in esophageal cancer, esophageal cancer-related cachexia-anorexia syndrome (CAS) and non-malignant CAS of the alimentary tract.* Cytokine 2010 Vol.51 no.2; s.132-137 (IF: 3.537)** przedstawiłam wyniki badań dotyczące roli leptyny w kacheksji nowotworowej u 85 pacjentów z ESCC i u 50 chorych z GC. Stężenia krążącej w surowicy leptyny zostały zmierzone w następujących grupach: w grupie pacjentów z rakiem i kacheksją nowotworową, w grupie chorych z rakiem lecz bez kacheksji, w grupie chorych z kacheksją nienowotworową i w grupie osób zdrowych. Według mojej wiedzy, było to pierwsze tego typu badanie porównawcze, przeprowadzone z udziałem pacjentów z ESCC i GC. W surowicy krwi badałam także stężenia IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , białka C-reaktywnego (*high sensitive C-reactive protein*, hsCRP), hemoglobiny i albuminy.

Przeprowadzone badania wykazały znamienne najniższe stężenia krążącej leptyny i TNF- $\alpha$  u kachektycznych pacjentów w zaawansowanym stadium raka. Jednocześnie stężenia IL-6, IL-8 i hsCRP były w tej grupie pacjentów najwyższe. Stężenia krążącej w surowicy leptyny były skorelowane pozytywnie ze stężeniami TNF- $\alpha$ , albuminy i hemoglobiny. Stwierdziłam negatywną korelację pomiędzy stężeniami leptyny a stężeniami IL-6, IL-8 i hsCRP. Moje badania wykazały, że powiązania korelacyjne miały większą moc u kobiet niż u mężczyzn. Wskaźnik BMI (u kobiet) oraz wskaźnik BMI i hsCRP (u mężczyzn) były niezależnymi parametrami modulującymi zmiany w stężeniach krążącej leptyny u 60% pacjentów z rakiem. Wykazałam, że niskie stężenia krążącej w surowicy leptyny u pacjentów z rakiem są związane przede wszystkim z występowaniem kacheksji u tych chorych, a nie z obecnością nowotworu. Wysunęłam wniosek, że leptyna i BMI są niezależnymi markerami syndromu kacheksja-anoreksja, zarówno u pacjentów z rakiem, jak i u osób z chorobami nienowotworowymi, co

znalazło potwierdzenie u 93% osób z kacheksją. Natomiast stężenia krążącej we krwi leptyny nie były odzwierciedleniem jej prozapalnych własności i nie odgrywały istotnej roli w klinicznej ocenie stopnia progresji raka przełyku i raka połączenia przełykowo-żołądkowego.

Rola adipocytokin w patogenezie i progresji nowotworów jest obecnie tematem popularnym i wszechstronnie badanym. Ponieważ wyniki moich badań pozwoliły na wyciągnięcie ciekawych wniosków, kontynuowałam pracę nad określeniem wpływu adipocytokin na rozwój kacheksji w ESCC i GC. W kolejnym artykule nr 4.7 (Załącznik 1a/II. IA5): **Dorota Diakowska, Krystyna Markocka-Mączka, Piotr Szlachowski, Krzysztof Grabowski.**: *Serum levels of resistin, adiponectin, and apelin in gastroesophageal cancer patients. Dis.Markers 2014; art.ID 619649 [8 s.]; DOI:10.1155/2014/619649 (IF: 1.562)* przedstawiłam wyniki badań stężeń adiponektyny, rezystyny i apeliny w surowicy pacjentów z ESCC i GC. U pacjentów z kacheksją zaobserwowałam znamienne wyższe stężenia rezystyny w porównaniu z pacjentami bez kacheksji nowotworowej. Przy użyciu analiz kowariancji i dwuczynnikowej ANOVA jako pierwsza wykazałam, że obecność kacheksji i obecność przerzutów odległych (ale nie wskaźnik BMI) są dwoma niezależnymi czynnikami wpływającymi na wzrost stężenia rezystyny u pacjentów z rakiem. Obniżone stężenia adiponektyny w surowicy pacjentów z rakiem związane były z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych i przerzutów odległych. Natomiast stężenia apeliny były istotnie wyższe w ESCC i GC w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazałam także istotnie wyższe stężenia rezystyny i apeliny w homogenatach tkankowych guza niż w odpowiadających im tkankach zdrowych. Moje badania wskazują, że głównym źródłem ekspresji rezystyny w ESCC i GC prawdopodobnie nie jest tkanka tłuszczowa, a komórki guza, natomiast wzrost stężenia rezystyny w surowicy jest wskaźnikiem postępujących procesów kacheksji i przerzutowania w nowotworach górnego odcinka przewodu pokarmowego. Niskie stężenia adiponektyny w surowicy pacjentów z zaawansowanym stopniem rozwoju raka odzwierciedlają obniżenie ochronnej roli tej adipocytokiny w utrzymaniu homeostazy glukozy i lipidów w ustroju. Podwyższone stężenia surowiczej apeliny u chorych są prawdopodobnie wynikiem ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej, jednak nie mogą być markerami kacheksji czy progresji nowotworu.

## Wnioski

W prezentowanym osiągnięciu:

- Jako pierwsza na świecie zaobserwowałam zmianę stężeń 8-OHdG w surowicy pacjentów z ESCC po leczeniu operacyjnym. Analiza porównawcza próbek surowicy wykazała, że najwyższe stężenie tego parametru występowało przed leczeniem operacyjnym, po dwóch tygodniach od operacji (całkowite lub częściowe usunięcie przełyku) stężenie 8-OHdG w surowicy ulegało obniżeniu, a po trzech miesiącach od operacji (próbka krwi pobrana przed zabiegiem wytworzenia przełyku zastępczego z uszypułowanej części jelita grubego) stężenie 8-OHdG miało wciąż tendencję istotnie malejącą. Zaobserwowałam również wzrost stężenia 8-OHdG u pacjentów z potwierdzonymi histopatologicznie przerzutami do węzłów chłonnych, co sugeruje możliwość oznaczeń tego czynnika jako markera limfangiogenezy.

- Wykazałam, że zmiany w stężeniach TBARS oraz określenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego w surowicy krwi mogą być brane pod uwagę jako potencjalne markery diagnostyczne ESCC.
- Potwierdziłam obserwacje prowadzone przez autorów wcześniejszych artykułów, o wzroście stężeń cytokin prozapalnych: IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  oraz białka hsCRP w surowicy pacjentów z ESCC.
- W przeglądzie artykułów naukowych dotyczących roli cytokin prozapalnych jako potencjalnych markerów ESCC oznaczanych w surowicy krwi wykazałam, że białka z rodziny VEGF są wiodącymi biomarkerami wczesnego rozwoju raka, angiogenezy i limfangiogenezy, obecności przerzutów odległych oraz przewidywania przeżycia chorych z tego typu rakiem.
- Potwierdziłam wysoką ekspresję COX-2 w tkankach guza nowotworowego w ESCC oraz jako pierwsza dokonałam analizy stężeń PGE-2 w surowicy pacjentów z rakiem. Choć stężenia krążącej PGE-2 we wczesnych stopniach rozwoju nowotworu były istotnie wyższe, jednak dalsze badania wykluczyły wykorzystanie tego czynnika jako markera wczesnej obecności ESCC.
- Jako pierwsza wykazałam, że niskie stężenia leptyny u pacjentów z rakiem górnego odcinka przewodu pokarmowego są związane przede wszystkim z występowaniem kacheksji, a nie z obecnością nowotworu. Wyszunęłam wniosek, że leptyna i BMI są niezależnymi markerami syndromu kacheksja-anoreksja, zarówno u pacjentów z rakiem, jak i o osób z chorobami nienowotworowymi, co znalazło potwierdzenie u 93% osób z kacheksją. Natomiast stężenia krążącej we krwi leptyny nie odgrywały istotnej roli w klinicznej i patologicznej ocenie stopnia progresji raka przełyku i raka połączenia przełykowo-żołądkowego.
- Jako pierwsza wykazałam, że kacheksja i obecność przerzutów odległych u pacjentów z rakiem górnego odcinka przewodu pokarmowego są dwoma niezależnymi czynnikami wpływającymi na wzrost stężenia rezystyny w surowicy krwi. Moje badania wskazują, że głównym źródłem ekspresji rezystyny w ESCC i GC przypuszczalnie nie jest tkanka tłuszczowa, a komórki guza nowotworowego. Wzrost stężeń rezystyny w surowicy jest wskaźnikiem postępujących procesów kacheksji i przerzutowania w tych nowotworach.
- Potwierdziłam występowanie niskich stężeń adiponektyny w surowicy pacjentów z zaawansowanym stopniem rozwoju raka, które mogą odzwierciedlać obniżenie ochronnej roli tej adipocytokiny w metabolizmie energetycznym ustroju. Zaobserwowałam też podwyższone stężenia krążącej we krwi apelinu, co jest prawdopodobnie wynikiem ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej u chorych z ESCC i GC.

Podsumowując, omawiany cykl publikacji pozwolił na uzyskanie nowych informacji dotyczących możliwości zastosowania wybranych cytokin i parametrów stresu oksydacyjnego jako markerów w diagnostyce pacjentów z rakiem górnego odcinka przewodu pokarmowego i rakiem jelita grubego. Uzyskane wiadomości poszerzają wiedzę na ten temat i stanowią przyczynek do trwających wciąż poszukiwań związków biologicznych, zdolnych do pełnienia funkcji biomarkerów

nowotworowych. Czynniki scharakteryzowane w moich badaniach mogą być pomocne zarówno we wczesnej diagnostyce nowotworów przewodu pokarmowego, jak też w lepszej ocenie stanu zaawansowania choroby i wyborze sposobu leczenia. Znaczenie może mieć też wartość prognostyczna tych czynników w procesie długotrwałego monitorowania pacjentów z nowotworami po zastosowanym leczeniu operacyjnym.

#### Piśmiennictwo

- [1] Valverde C, Macarulla T, Casado E, Ramos F, Martinelli E, Taberero J: Novel targets in gastric and esophageal cancer. *Critical Rev Oncol Hematol* 2006; 59: 128-138.
- [2] Duffy MJ, Lamerz R, Haglund C, Nicolini A, Kalousová M, Holubec L, Sturgeon C. Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update. *Int J Cancer*. 2014;134(11):2513-22.
- [3] Didkowska J., Wojciechowska U, Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2011 roku. *Cancer in Poland in 2011*. Warsaw: Polish National Cancer Registry; 2013.
- [4] Mariette C, Piessen G, Triboulet JP. Therapeutic strategies in oesophageal carcinoma: role of surgery and other modalities. *Lancet Oncol* 2007; 8: 545-553.
- [5] Bystricky B, Okines AF, Cunningham D: Optimal therapeutic strategies for resectable oesophageal or oesophagogastric junction cancer. *Drugs* 2011; 71, 5: 541-55.
- [6] Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, Somerfield MR, Hayes DF, Bast RC Jr. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol*. 2006 Nov 20;24(33):5313-27.
- [7] Vallbohmer D, Brabender J, Metzger R, Holscher A. Genetics in the pathogenesis of esophageal cancer: possible predictive and prognostic factors. *J Gastrointest Surg* 2010; 14, (suppl 1): S75-S80.
- [8] Chen F, Zhuang X, Lin L, Yu P, Wang Y, Shi Y, Hu G, Sun Y. New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. *BMC Med*. 2015 Mar 5;13(1):45. doi: 10.1186/s12916-015-0278-7.
- [9] Liu J, Li Z, Cui J, Xu G, Cui G. Cellular changes in the tumor microenvironment of human esophageal squamous cell carcinomas. *Tumor Biol* 2012; 33: 495-505.
- [10] Eiro N, Visoso J. Inflammation and cancer. *World J Gastrointest Surg* 2012; 4(3): 62-72.
- [11] Wilson J, Balkwill F. The role of cytokines in the epithelial cancer microenvironment. *Semin Cancer Biol* 2002; 12(2): 113-20.
- [12] Ścibor-Bentkowska D, Czeczot H. Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. Cancer cells and oxidative stress. *Postępy Hig Med Dosw*. 2009, 63:58-72.
- [13] Mates J, Segura J, Alonso F, Marquez J. Oxidative stress in apoptosis and cancer: an update. *Arch Toxicol* 2012; 86:1649-65.
- [14] Yao X, Tian Z. Dyslipidemia and colorectal cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. *Cancer Causes Control*. 2015; 26(2):257-68.
- [15] Agnoli C, Grioni S, Sieri S et al. Colorectal cancer risk and dyslipidemia: a case-cohort study nested in an Italian multicentre cohort. *Cancer Epidemiol*. 2014; 38:144-151.
- [16] van Duynhoven FJ, Bueno-De-Mesquita HB, Calligaro M et al. Blood lipid and lipoprotein concentrations and colorectal cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Gut* 2011; 60:1094-1102
- [17] Lin DC, Du XL, Wang MR. Protein alterations in ESCC and clinical implications: a review. *Dis Esoph* 2009; 22: 9-20.
- [18] Xu SY, Liu Z, Ma WJ, Sheyhidin I, Zheng ST, Lu XM. New potential biomarkers in the diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Biomarkers*. 2009;14(5): 340-6.
- [19] Mroczko B, Kozłowski M, Groblewska M, Łukaszewicz M, Nikliński J, Jelski W, Laudański J, Chyczewski L, Szmitkowski M: The diagnostic value of the measurement of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), squamous cell cancer antigen (SCC) and carcinoembryonic antigen (CEA) in the sera of esophageal cancer patients. *Clin Chim Acta* 2008, 389, 1-2, 61-6.
- [20] Wilson J, Balkwill F. The role of cytokines in the epithelial cancer microenvironment. *Semin Cancer Biol* 2002; 12(2): 113-20.
- [21] Pries R, Wollenberg B. Cytokines in head and neck cancer. Review. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17(3): 141-6.

- [22] Huang JX, Xiao W, Chen WC, et al. Relationship between COX-2 and cell cycle-regulatory proteins in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5975-81.
- [23] Kuo KT, Chow KC, Wu YC, et al. Clinicopathologic significance of cyclooxygenase-2 overexpression in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2003; 76: 909-14.
- [24] Deans DAC, Tan BH, Wigmore SJ, Ross JA, de Beaux AC, Paterson-Brown S, et al. The influence of systemic inflammation, dietary intake and stage of disease on rate of weight loss in patients with gastro-oesophageal cancer. *Br J Cancer* 2009;100:63–9.
- [25] Nieman KM, Romero IL, Van Houten B, Lengyel E. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1831(10):1533-41.
- [26] Saini A, Nassar A, Stewart CEH. Waste management — cytokines, growth factors and cachexia. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17:475–86.
- [27] Deans DAC, Tan BH, Wigmore SJ, Ross JA, de Beaux AC, Paterson-Brown S, et al. The influence of systemic inflammation, dietary intake and stage of disease on rate of weight loss in patients with gastro-oesophageal cancer. *Br J Cancer* 2009;100:63–9.

d) Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych:

Oprócz siedmiu artykułów, wchodzących w skład osiągnięcia naukowego i będących podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, mój dorobek naukowy obejmuje publikacje, które ukazały się przed otrzymaniem stopnia doktora i po jego uzyskaniu, a które można pogrupować w następujące cykle tematyczne:

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:

1. *Cykl publikacji poświęcony badaniom nad wskaźnikami biochemicznymi wykorzystywanymi w monitorowaniu leczenia pacjentów z przewlekłym zapaleniem trzustki.*

Jednym z projektów naukowych realizowanych w latach 1997-2004 w Klinice Chirurgii Przewodu Pokarmowego i Chirurgii Ogólnej UM we Wrocławiu był temat selektywnego wyboru techniki leczenia operacyjnego chorych z przewlekłym zapaleniem trzustki (PZT) i pooperacyjnego monitorowania tych pacjentów. Moim zadaniem, jako pracownika laboratorium naukowego kliniki było poszukiwanie parametrów biochemicznych, które mogłyby być pomocne w diagnostyce, wyborze typu operacji i ocenie leczenia pooperacyjnego pacjentów z tym schorzeniem. Do badań wykorzystywałam oznaczanie aktywności amylazy, lipazy i trypsyny w surowicy i w płynach z drenów okolicy trzustki. Wykonywałam również kolorymetryczne oznaczenia ilości lipidów całkowitych wydalanych w kale dobowym oraz badania stężeń lipidów i elastazy 1 w kale pacjentów z PZT. Długoterminowe badania wykazały, że najlepszymi wskaźnikami w diagnostyce i pooperacyjnym monitorowaniu pacjentów z PZT były oznaczenia ilości lipidów całkowitych w kale dobowym i stężeń elastazy 1 w kale. Wyniki badań opublikowano w 6 artykułach, w dwóch jestem pierwszym autorem (Załącznik 1a/l. IB2,3), a w czterech – współautorem prac (Załącznik 1a/l. IB4,5,6,7):

- **Diakowska D., Knast W., Szelachowski P.:** *Porównanie użyteczności trzech pośrednich testów czynnościowych trzustki dla oceny stopnia zdrowienia pacjentów z przewlekłym*



zapaleniem trzustki po zabiegach chirurgicznych. *Gastroenterol.Pol.* 2002 T.9 nr 2; s.129-134. Pkt. MNiSW/KBN: 4.000, (praca oryginalna)

- **Diakowska D.**, Knast W., Szlachowski P.: Ocena przydatności dwóch pośrednich testów czynnościowych trzustki w monitorowaniu wyników chirurgicznego leczenia przewlekłego zapalenia trzustki. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2003 Vol.12 no.6; s.731-738. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)
- Knast W., Markocka-Mączka K., **Diakowska D.**: Rzadki przypadek przewlekłego zapalenia trzustki z niepełnym zwrotem jelita cienkiego - leczony operacyjnie. *Pol.Przegl.Chir.* 2003 T.75 nr 5; s.492-495. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)
- Knast W., Marta Strutyńska-Karpińska, Markocka-Mączka K., **Diakowska D.**: Distal pancreatectomy with the preservation of the spleen and the splenic vessels. *Case Rep.Clin.Pract.Rev.(on-line)* 2004 Vol.5; s.14-20. Pkt. MNiSW/KBN: 4.000, (praca oryginalna)
- Knast W., Markocka-Mączka K., Strutyńska-Karpińska M., **Diakowska D.**, Wierzbicki J., Lesiak P.: Lewostronna resekcja trzustki = Left-sided pancreatectomy. *Pol.Przegl.Chir.* 2004 T.74 nr 10; s.1046-1061. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)
- Knast W., Markocka-Mączka K., **Diakowska D.**, Wierzbicki J., Szlachowski P., Lesiak P.: Operacja sposobem Frey'a w leczeniu następstw przewlekłego zapalenia trzustki = Frey's procedure in the treatment of chronic pancreatitis complications. *Pol.Przegl.Chir.* 2004 T.76 nr 5; s.498-510. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)

W rezultacie prowadzonych przeze mnie szczegółowych badań nad zaburzeniami procesów trawienia lipidów w przebiegu PZT, polegających na analizach poszczególnych frakcji lipidowych w kale (stężenia triglicerydów, diglicerydów, frakcji wolnych kwasów tłuszczowych) i w surowicy (stężenia triglicerydów, cholesterolu całkowitego i jego frakcji oraz frakcji chylomikronów), przy pomocy technik: chromatografii cienkowarstwowej, testów chemicznych i elektroforezy lipoprotein surowicy, powstała moja praca doktorska (Załącznik 1a/l) oraz 3 publikacje, których jestem pierwszym autorem (Załącznik 1a/l. IB8,9,10). Wykazałam w nich, że zaburzenia w gospodarce lipidowej chorych z PZT ulegają częściowej normalizacji po leczeniu operacyjnym i substytucyjnym, chociaż stężenia HDL-C i LDL-C w surowicy krwi pozostają nieprawidłowe przez cały cykl leczenia. Potwierdziłam także przydatność badań stężeń frakcji lipidowych i stężeń elastazy 1 w kale w pooperacyjnym monitorowaniu pacjentów z PZT.

- **Diakowska D.** ; promotor prof. dr hab. n. med. Knast W. ; Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Katedra i Klinika Chirurgii Przewodu Pokarmowego i Chirurgii Ogólnej: Analiza frakcji lipidowych u chorych z przewlekłym zapaleniem trzustki po operacjach resekcyjnych i drenażowych trzustki [praca doktorska]. Wrocław, 2004; 98, XXXV s.
- **Diakowska D.**, Knast P., Diakowski D., Grabowski K., Strutyńska-Karpińska M., Markocka-Mączka K., Szlachowski P.: Fecal elastase 1 determination for the diagnosis of chronic pancreatitis (results before and after surgical treatment). *Gastroenterol.Pol.* 2005 T.12 nr 5; s.403-407. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)

- **Diakowska D., Knast W., Diakowski D., Grabowski K., Szlachowski P., Pelczar P.:** Zaburzenia metabolizmu triglicerydów obserwowane w przewlekłym zapaleniu trzustki oraz wyniki po operacyjnym leczeniu tego schorzenia. *Pol.Merkur.Lek.* 2005 T.18 nr 108; s.629-633. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)
- **Diakowska D., Diakowski W., Knast W., Grabowski K., Strutyńska-Karpińska M., Markocka-Mączka K.:** Abnormal metabolism of cholesterol fractions in chronic pancreatitis and results after surgical treatment. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2006 Vol.15 no.4; s.631-636 Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)

Równocześnie, od 1999 roku w obszarze moich zainteresowań znalazły się badania nad rolą cytokin i receptorów cytokin w chorobach przełyku. W publikacji (Załącznik 1a/l. IB1):

- **Augof K., Grabowski K., Rabczyński J., Diakowska D.:** Receptor naskórkowego czynnika wzrostu (EGF-R) w błonie śluzowej zastępczych przełyków wytworzonych z uszypułowanych odcinków jelita grubego. *Gastroenterol.Pol.* 2000 T.7 nr 3; s.165-170. Pkt. MNiSW/KBN: 4.000, (praca oryginalna)

przy pomocy badań immunohistochemicznych wykazano, że natężenie ekspresji receptorów naskórkowego czynnika wzrostu (EGF-R) w błonie śluzowej przełyków zastępczych wytworzonych z uszypułowanych odcinków jelita grubego (obserwacja wycinków pobranych w czasie od 4 miesięcy do ponad 15 lat) nie różniło się od ekspresji tego receptora w kontrolnej błonie śluzowej jelita. Wysunięto wniosek, że zmniejszające się w czasie zmiany zapalne śluzówki w przełykach zastępczych nie są związane z ilością EGF-R.

#### Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:

Następne cykle publikacji, już po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora, dotyczą tematyki wpływu biologicznie czynnych związków, biorących udział w tworzeniu podścieliska nowotworowego, na rozwój i progresję nowotworów przewodu pokarmowego. W badaniach wykorzystano materiał ludzki: krew i tkanki. Wyniki badań laboratoryjnych odnoszono do charakterystyk klinicznych oraz wyników histopatologicznych i diagnostycznych chorych. Zastosowano następujące metody analiz laboratoryjnych: immunoenzymatyczne testy ELISA - do oznaczeń stężeń białek, produktów utleniania DNA i produktów utleniania lipoprotein w surowicy krwi i w tkankach; reakcje chemiczne i komercyjne testy diagnostyczne - do oznaczeń stężeń białek i lipidów w surowicy ludzkiej; kolorymetryczne reakcje chemiczne - do oznaczeń stężeń produktów peroksydacji lipidów, komercyjne zestawy testów - do kolorymetrycznego oznaczania aktywności enzymów w surowicy i erytrocytach; technologię multipleksu Luminex xMAP – do panelowych oznaczeń stężeń cytokin w surowicy i tkankach; technikę RT-PCR – do oznaczania ekspresji genów w tkankach.

Dzięki długoletniej i trwającej do tej pory współpracy z Katedrą Biochemii Lekarskiej UM we Wrocławiu powstał szereg prac, będących wiodącą częścią mojego dorobku naukowego. Artykuły, których jestem pierwszym autorem lub współautorem przedstawiłam poniżej, w kolejnym cyklu prac.

2. *Cykl publikacji poświęcony roli cytokin prozapalnych i immunosupresyjnych w rozwoju i progresji nowotworów górnego odcinka przewodu pokarmowego.*

Celem prowadzonych projektów była analiza zmienności stężeń cytokin prozapalnych, krążących w surowicy krwi, w odniesieniu do parametrów klinicznych i histopatologicznych pacjentów z nowotworami górnego odcinka przewodu pokarmowego. Mój udział w badaniach, których jestem współautorem polegał na: gromadzeniu materiału badawczego (krew i tkanki), wstępnym przygotowaniu i zabezpieczeniu materiału biologicznego do badań, archiwizacji i interpretacji danych klinicznych, laboratoryjnych i histopatologicznych pacjentów, krytycznej recenzji publikacji. W publikacjach, w których jestem pierwszym autorem, mój udział był wiodący i polegał na: zaprojektowaniu badania, gromadzeniu materiału badawczego (krew i tkanki), wstępnym przygotowaniu i zabezpieczeniu materiału biologicznego do badań, gromadzeniu danych klinicznych, laboratoryjnych i histopatologicznych pacjentów, wykonaniu wszystkich badań laboratoryjnych, analizie statystycznej danych, wiodącym udziale w przygotowaniu publikacji. Łącznie w cyklu opublikowano 15 artykułów o łącznym IF: 11.99 i punktacji MNiSW/KBN: 217.

Uczestniczyłam w badaniach podejmujących problematykę znaczenia midkiny w rozwoju i progresji ESCC i GC. Midkina jest cytokiną aktywną zarówno na poziomie komórkowym (jest czynnikiem mitogennym, hamuje reakcje apoptozy, bierze udział w procesach różnicowania, migracji i adhezji komórkowej, stymuluje syntezę innych cytokin), jak również tkankowym (bierze udział w organogenezie, regeneracji i ochronie tkanek, uczestniczy w formowaniu macierzy zewnątrzkomórkowej). O przypuszczalnej roli midkiny w procesie nowotworzenia niewiele do tej pory wiadomo, dlatego podjęliśmy badania związane z tą tematyką.

Cykl artykułów poświęconych midkinie zapoczątkowały prace, w których zaprezentowano własną metodę ELISA oznaczania stężenia tego peptydu w surowicy krwi oraz wykazano podwyższone stężenie midkiny w surowicy pacjentów z przepukliną brzuszną, wykluczając tę grupę osób jako kontrolę w badaniach porównawczych (Załącznik 1a/l. IB11,12)

- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., Grabowski K., **Diakowska D.**, Boehm D., Kustrzeba-Wójcicka I., Banaś T.: *Immunoenzymatic method for midkine determination in serum. Adv.Clin.Exp.Med. 2006 Vol.15 no.2; s.247-252. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)*
- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., Grabowski K., **Diakowska D.**, Kustrzeba-Wójcicka I., Banaś T.: *Elevated levels of an angiogenic factor, midkine, in serum of patients with hernia. Adv.Clin.Exp.Med. 2006 Vol.15 no.2; s.265-269. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)*

W kolejnej publikacji (Załącznik 1a/l. IA1):

- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., **Diakowska D.**, Grabowski K., Błachut K., Kustrzeba-Wójcicka I., Banaś T.: *Serum midkine depends on lymph node involvement and correlates with circulating VEGF-C in oesophageal squamous cell carcinoma. Biomarkers 2007 Vol.12 no.4; s.403-413. IF: 1.978. Pkt. MNiSW/KBN: 24.000, (praca oryginalna)*

opisano zaobserwowaną po raz pierwszy zależność między wysokim stężeniem midkiny w surowicy a obecnością przerzutów do węzłów chłonnych w ESCC, co sugeruje możliwość wykorzystania tej cytokiny jako markera procesu limfangiogenezy. Wykazano korelację między stężeniami midkiny i VEGF-C, czynnika również mocno związanego z przerzutowaniem raka do węzłów chłonnych.

W kolejnych publikacjach napisano o roli peptydów z rodziny VEGF jako wskaźnikach obecności raka przełyku, roli VEGF-C jako markera przerzutowania komórek raka do węzłów chłonnych w ESCC oraz o wysokim stężeniu proangiogennych VEGF-A i VEGF-C w stanie przewlekłej hipoksji u chorych z ESCC i GC. Są to prace, w których po raz pierwszy analizowano zmiany zachodzące w stężeniach tych białek z uwzględnieniem parametrów klinicznych i histopatologicznych w grupie pacjentów z rakiem górnego odcinka przewodu pokarmowego (Załącznik 1a/l. IA2 i IB14):

- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., **Diakowska D.**, Grabowski K., Błachut K., Banaś T.: *Up-regulation of VEGF-C secreted by cancer cells and not VEGF-A correlates with clinical evaluation of lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC)*. *Cancer Lett.* 2007 Vol.249 no.2; s.171-177. IF: 3.398, Pkt. MNiSW/KBN: 20.000, (praca oryginalna)
- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., **Diakowska D.**, Grabowski K., Błachut K., Kustrzeba-Wójcicka I., Gamian A.: *Impact of systemic hypoxemia on cancer aggressiveness and circulating vascular endothelial growth factors A and C in gastroesophageal cancer patients with chronic respiratory insufficiency*. *Exp.Oncol.* 2007 Vol.29 no.3; s.236-242. Pkt. MNiSW/KBN: 10.000, (praca oryginalna)

Wykazano, że cytokiny prozapalne IL-6 i IL-8, a z wysokim prawdopodobieństwem również midkina są czynnikami wpływającymi na rozwój kacheksji nowotworowej w ESCC i GC (Załącznik 1a/l. IA3).

- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., **Diakowska D.**, Grabowski K., Błachut K., Kustrzeba-Wójcicka I., Banaś T.: *Impact of weight loss on circulating IL-1, IL-6, IL-8, TNF-alpha, VEGF-A, VEGF-C and midkine in gastroesophageal cancer patients*. *Clin.Biochem.* 2007 Vol.40 no.18; s.1353-1360. IF: 2.072. Pkt. MNiSW/KBN: 20.000, (praca oryginalna)

W następnych publikacjach zwrócono uwagę na rolę IL-8 i płytkowego czynnika wzrostu (*platelet-derived growth factor*, PDGF) jako markera limfangiogenezy i obecności przerzutów odległych w ESCC (Załącznik 1a/l. IA6 i IB20):

- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., **Diakowska D.**, Grabowski K., Błachut K., Konieczny D., Kustrzeba-Wójcicka I., Terlecki G., Banaś T.: *Elevation of circulating interleukin-8 is related to lymph node and distant metastases in esophageal squamous cell carcinomas--implication for clinical evaluation of cancer patient*. *Cytokine* 2008 Vol.41 no.3; s.232-239 IF: 2.214. Pkt. MNiSW/KBN: 20.000, (praca oryginalna)
- Krzystek-Korpacka M., **Diakowska D.**, Gamian A., Matusiewicz M.: *Increase in serum platelet-derived growth factor (PDGF)-BB reflects lymph node involvement in esophageal cancer patients independently from platelet count*. *Exp.Oncol.* 2011 Vol.33 no.3; s.140-144 Pkt. MNiSW/KBN: 13.000, (praca oryginalna)

Dowodzono również o istnieniu współzależności pomiędzy występowaniem ogólnoustrojowej hipoksemii u pacjentów z ESCC a wzrostem sekrecji wskaźników stanu zapalnego (IL-6, hsCRP) przy jednoczesnym obniżeniu stężeń albuminy i transferyny we krwi chorych (Załącznik 1a/l. IB17). Wykazano związek pomiędzy wysokim stężeniem białek ostrej fazy we krwi, syndromem anoreksja-kacheksja i procesem angiogenezy w przebiegu ESCC i GC (Załącznik 1a/l. IA5):

- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., **Diakowska D.**, Grabowski K., Neubauer K., Kustrzeba-Wójcicka I., Terlecki G., Gamian A.: *Respiratory insufficiency related to COPD accelerates systemic inflammation, under-nutrition, and angiogenesis in esophageal malignancies. Exp.Oncol. 2008 Vol.30 no.1; s.75-80. Pkt. MNiSW/KBN: 13.000, (praca oryginalna)*
- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., **Diakowska D.**, Grabowski K., Błachut K., Kustrzeba-Wójcicka I., Terlecki G., Gamian A.: *Acute-phase response proteins are related to cachexia and accelerated angiogenesis in gastroesophageal cancers. Clin.Chem.Lab.Med. 2008 Vol.46 no.3; s.359-364. IF: 1.888. Pkt. MNiSW/KBN: 27.000, (praca oryginalna)*

Wykazano również, że u pacjentów z ESCC i GC, u których stwierdzono współistniejącą anemię i zaburzenia w sekrecji czynników proangiogennych, częściej następowała progresja choroby z przerzutami raka do węzłów chłonnych (Załącznik 1a/l. IB18):

- Krzystek-Korpacka M., Matusiewicz M., **Diakowska D.**, Grabowski K., Błachut K., Kustrzeba-Wójcicka I., Gamian A.: *Even a mild anemia is related to tumor aggressiveness mediated by angiogenic factors. Exp.Oncol. 2009 Vol.31 no.1; s.52-56. Pkt. MNiSW/KBN: 13.000, (praca oryginalna)*

Kolejne artykuły, w których jestem pierwszym autorem, zostały poświęcone roli cytokin o działaniu immunosupresyjnym i przeciwzapalnym w rakach przełyku, rakach połączenia przełykowo-żołądkowego i żołądka. W obszarze moich zainteresowań znalazły się cytokiny o plejotropowym i synergistycznym charakterze, interleukina-12 (IL-12) i interleukina-18 (IL-18). Cytokiny te stymulują wydzielanie interferonu- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), a w zależności od środowiska cytokin, w którym się znajdują, promują polaryzację immunologiczną w kierunku odpowiedzi Th1- lub Th2-zależnej. W swoich badaniach zaobserwowałam, że wysokie stężenia IL-18 w surowicy pacjentów z ESCC związane były z progresją nowotworu: wzrostem guza pierwotnego, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych i przerzutów odległych (Załącznik 1a/l. IB13). Zatem IL-18 można w tym przypadku uznać za marker stopnia zaawansowania choroby.

- **Diakowska D.**, Markocka-Mączka K., Grabowski K., Lewandowski A.: *Serum interleukin-12 and interleukin-18 levels in patients with oesophageal squamous cell carcinoma. Exp.Oncol. 2006 Vol.28 no.4; s.319-322. Pkt. MNiSW/KBN: 10.000*

Odwrotne zjawisko można zaobserwować w przypadku znaczącego wzrostu stężenia IL-12 i IL-18 w surowicy pacjentów z niskim stopniem zaawansowania raka żołądka typu jelitowego, które może być związane z aktywacją reakcji immunologicznych gospodarza skierowanych przeciwko komórkom guza (Załącznik 1a/l. IB21).

- **Diakowska D., Grabowski K., Nienartowicz M., Szlachowski P., Markocka-Mączka K.:** *Serum and tissue levels of interleukin-12 and interleukin-18 in intestinal type gastric cancer. Gastroenterol.Pol. 2011 T.18 nr 3; s.103-108. Pkt. MNiSW/KBN: 9.000*

Do rodziny IL-12 zaliczana jest interleukina-27 (IL-27), której rolę w odniesieniu do cech klinicznych i patologicznych pacjentów z ESCC i GC badałam jako pierwsza na świecie. Wykazałam, że wysokie stężenia IL-27 w surowicy chorych związane są z obecnością nowotworu, przerzutami do węzłów chłonnych i wysokim stężeniem IFN- $\gamma$ , co wskazuje na istotną rolę tej cytokiny w modulowaniu odpowiedzi Th1 komórkowej i hamowaniu odpowiedzi Th2 (Załącznik 1a/l. IA11):

- **Diakowska D., Lewandowski A., Markocka-Mączka K., Grabowski K.:** *Concentration of serum interleukin-27 increase in patients with lymph node metastatic gastroesophageal cancer. Adv.Clin.Exp.Med. 2013 Vol.22 no.5; s.683-691. IF: 0.333. Pkt. MNiSW/KBN: 15.000*

Wykazano, że transformujący czynnik wzrostu- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) podczas rozwoju i progresji nowotworu może wykazywać dwojaki charakter. We wczesnej fazie rozwoju raka TGF- $\beta$ 1 działa jak immunosupresor, hamując procesy wzrostowe nie tylko normalnych komórek nabłonka, ale także komórek raka. W późniejszej fazie rozwoju nowotworu cytokina ta jest aktywatorem procesów angiogenezy i przerzutowania. W badaniach dotyczących znaczenia tego czynnika w ESCC wykazałam znaczący wzrost stężenia TGF- $\beta$ 1 w rozwoju pierwotnego guza nowotworowego. U 61% pacjentów po wykonanej resekcji guza pierwotnego zaobserwowałam istotne obniżenie stężenia TGF- $\beta$ 1 w surowicy. Wykazałam również korelację pomiędzy TGF- $\beta$ 1 a VEGF-A. Moje badania pozwoliły na sformułowanie twierdzenia, że głównym źródłem ekspresji TGF- $\beta$ 1 w ESCC może być guz pierwotny. Potwierdziłam także wcześniejsze przypuszczenia o prawdopodobnym stymulującym wpływie TGF- $\beta$ 1 na wydzielanie VEGF-A w tym typie nowotworu (Załącznik 1a/l. IA9)

- **Diakowska D., Lewandowski A., Markocka-Mączka K., Grabowski K.:** *Elevated levels of serum transforming growth factor-beta1 in oesophageal squamous cell carcinoma patients. Współcz.Onkol. 2011 Vol.15 no.3; s.137-141. IF: 0.107. Pkt. MNiSW/KBN: 13.000*

### 3. Cykl publikacji poświęcony roli cytokin prozapalnych w rozwoju i progresji raka jelita grubego.

Współuczestniczyłam w badaniu mającym na celu określenie diagnostycznego znaczenia aktywności arylosulfatazy w surowicy krwi pacjentów z gruczolakiem polipowatym (AdP) i CRC. Wykazano, że znamienne wysokie aktywności enzymu hydrolitycznego arylosulfatazy w surowicy chorych z AdP mogą być wskaźnikiem diagnostycznym tego schorzenia (Załącznik 1a/l. IA7):

- **Matusiewicz M., Krzystek-Korpaczka M., Diakowska D., Grabowski K., Augoff K., Błachut K., Paradowski L., Kustrzeba-Wójcicka I., Piast M., Banaś T.:** *Serum sulfatase activity is more*

*elevated in colonic adenomas than cancers. Int.J.Colorect.Dis. 2008 Vol.23 no.4; s.383-387 IF: 1.767. Pkt. MNiSW/KBN: 27.000, (praca oryginalna)*

Brałam udział w badaniach dotyczących roli cytokin prozapalnych w patogenezie i progresji raka jelita grubego. Ośrodkami uczestniczącymi w tym projekcie były: Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej UM we Wrocławiu, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu i Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu. Mój wkład w powstanie omawianego cyklu badań polegał na: gromadzeniu materiału biologicznego (krew i tkanki), wstępnym przygotowaniu i zabezpieczeniu materiału biologicznego do badań, archiwizacji i interpretacji danych klinicznych, laboratoryjnych i histopatologicznych pacjentów, krytycznej recenzji przygotowanego manuskryptu. W cyklu opublikowano 5 artykułów o łącznym IF: 17.37 i punktacji MNiSW/KBN: 157.

W artykule (Załącznik 1a/l. IA10):

- *Krzystek-Korpacka M., Diakowska D., Grabowski K., Gamian A.: Tumor location determines midkine level and its association with the disease progression in colorectal cancer patients: a pilot study. Int.J.Colorect.Dis. 2012 Vol.27 no.10; s.1319-1324. IF: 2.238. Pkt. MNiSW/KBN: 30.000, (praca oryginalna)*

wykazano 30-krotnie wyższy poziom ekspresji midkiny w tkankach guza pierwotnego w porównaniu z tkanką zdrową u pacjentów z CRC, przy czym ekspresja midkiny była znamienne wyższa w tkance pozyskanej z okolicy wstępnic-poprzecznic-zstępnic niż z okolicy odbytu. W raku okrężnicy ekspresja midkiny była najsilniejsza w początkowych stadiach zaawansowania nowotworu bez obecności przerzutów, natomiast ekspresja midkiny w raku odbytu skorelowana była z progresją choroby i obecnością przerzutów do węzłów chłonnych.

W następnej publikacji zaprezentowano wyniki analizy stężeń 12 cytokin prozapalnych, chemokin i czynników wzrostu wykonanych w pomiarach panelowych przy pomocy techniki multipleksu Luminex xMAP u pacjentów z CRC, chorych z gruczolakiem polipowatym (łac. *adenoma polyposum*, AdP) i u chorych z zapaleniem jelita grubego (*inflammatory bowel disease*, IBD). Wykazano, że panel dwóch cytokin: czynnik wzrostu fibroblastów-2 (*fibroblast growth factor-2*, FGF-2) i czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (*granulocyte colony-stimulating factor*, G-CSF) jest wskaźnikiem diagnostycznym różnicującym z wysoką czułością i specyficznością grupę pacjentów z wczesnym CRC i grupę chorych z IBD, a panel trzech cytokin: IL-8, IL-6 i FGF-2 jest wskaźnikiem pomocnym przy klasyfikacji pacjentów do grupy chorych z CRC lub do grupy pacjentów z AdP (Załącznik1a/l. IA12):

- *Krzystek-Korpacka M., Diakowska D., Kapturkiewicz B., Bębenek M., Gamian A.: Profiles of circulating inflammatory cytokines in colorectal cancer (CRC), high cancer risk conditions, and health are distinct. Possible implications for CRC screening and surveillance. Cancer Lett. 2013 Vol.337 no.1; s.107-114. IF: 5.016. Pkt. MNiSW/KBN: 35.000, (praca oryginalna)*

Następne badania dotyczyły zmienności stężeń midkiny w surowicy pacjentów z CRC i IBD. Wykazano, że midkina jest lepszym markerem obecności raka (wysokie stężenie midkiny już w I i II

pTNM stadium zaawansowania choroby) i lepszym wyznacznikiem stopnia zaawansowania CRC niż CEA (Załącznik 1a/l. IA13):

- Krzystek-Korpacka M., **Diakowska D.**, Neubauer K., Gamian A.: *Circulating midkine in malignant and non-malignant colorectal diseases. Cytokine 2013 Vol.64 no.1; s.158-164. IF: 2.874. Pkt. MNiSW/KBN: 25.000, (praca oryginalna)*

W kolejnym projekcie przy użyciu techniki RT-PCR przeprowadzono badania testujące stabilność ekspresji 15 wybranych genów referencyjnych w tkankach pacjentów z IBD i CRC (Załącznik 1a/l. IA15):

- Krzystek-Korpacka M., **Diakowska D.**, Bania J., Gamian A.: *Expression stability of common housekeeping genes is differently affected by bowel inflammation and cancer: implications for finding suitable normalizers for inflammatory bowel disease studies. Inflamm.Bowel Dis. 2014 Vol.20 no.7; s.1147-1156. IF: 4.464, Pkt. MNiSW/KBN: 40.000, (praca oryginalna)*

Wykazano, że najlepszymi genami kontrolnymi przy ocenie ekspresji genów w tkankach nowotworowych (CRC), zapalnych (IBD) i zdrowych (kontrola) są pary genów *PPIA/RPLP0* i *PPIA/RPS23* oraz w mniejszym stopniu – standardowo wykorzystywany gen *GAPDH*.

W ostatnio opublikowanym artykule (Załącznik 1a/l. IA16):

- Neubauer K., Bednarz-Misa I., **Diakowska D.**, Kapturkiewicz B., Gamian A., Krzystek-Korpacka M.: *Nampt/PBEF/visfatin upregulation in colorectal tumors, mirrored in normal tissue and whole blood of colorectal cancer patients, is associated with metastasis, hypoxia, IL1 $\beta$ , and anemia. BioMed Res.Int. 2015 Vol.2015; art.ID 523930 [12 s.], IF: 1.579, Pkt. MNiSW/KBN: 30.000, (praca oryginalna)*

zaobserwowano związek pomiędzy nadekspresją Nampt (PBEF) wisfatyny w tkankach guza nowotworowego i wysokim stężeniem tej cytokiny w surowicy krwi a przerzutowaniem raka do węzłów chłonnych, obecnością przerzutów odległych oraz parametrami związanymi z niedotlenieniem i niedożywieniem pacjentów z CRC.

#### 4. Cykl publikacji poświęcony analizie parametrów stresu oksydacyjnego i potencjałowi antyoksydacyjnemu w nowotworach przewodu pokarmowego.

Kolejny cykl artykułów jest wynikiem kontynuacji moich badań nad wpływem stresu oksydacyjnego i czynników antyoksydacyjnych na rozwój nowotworów przewodu pokarmowego. W publikacji (Załącznik 1a/l. IB15):

- **Diakowska D.**, Grabowski K., Mirosław Nienartowicz, Markocka-Mączka K.: *Lipid peroxidation and total antioxidant status in upper gastrointestinal tract cancers. Gastroenterol.Pol. 2007 T.14 nr 6; s.405-408. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)*

wykazałam, że podczas rozwoju nowotworów górnego odcinka przewodu pokarmowego podwyższeniu ulegają stężenia parametrów stresu oksydacyjnego związane z peroksydacją lipidów: malonylodialdehyd (MDA) i przeciwciała przeciwko oksydowanym LDL, a obniżeniu – wskaźnik



całkowitego statusu antyoksydacyjnego we krwi. Można zatem wyciągnąć wniosek, że w przebiegu tego typu nowotworów intensywnie zachodzą procesy utleniania lipidów przy jednoczesnym rozwoju niewydolności antyoksydacyjnej organizmu.

W kolejnym artykule wykazano, że obniżenie aktywności enzymatycznej paraoksonazy-1, esterazy mającej wpływ m.in. na zapobieganie oksydacyjnej peroksydacji lipidów, jest powiązane z prozapalnymi i proangiogennymi reakcjami w obrębie guza nowotworowego, mogącymi przyczynić się do progresji ESCC i GC, a szczególnie do tworzenia przerzutów do węzłów chłonnych (Załącznik 1a/l. IA4):

- *Krzystek-Korpacka M., Boehm D., Matusiewicz M., Diakowska D., Grabowski K., Gamian A.: Paraoxonase 1 (PON1) status in gastroesophageal malignancies and associated paraneoplastic syndromes - connection with inflammation. Clin.Biochem. 2008 Vol.41 no.10-11; s.804-811. IF: 1.926. Pkt. MNiSW/KBN: 32.000 (praca oryginalna)*

Wysokie stężenia reaktywnych form tlenu w komórkach nowotworowych mają decydujący wpływ na wzrost proliferacji komórek raka, powstawanie mutacji w DNA, wzrost niestabilności genomu, przyczyniając się do rozwoju nowotworu. Jednak istnieje też teoria paradoksu, według której obniżenie stężenia nadtlenku wodoru ma wpływ na wzrost proliferacji komórek raka<sup>1</sup>. Poziom tego związku w komórce jest regulowany głównie poprzez system działania enzymów antyoksydacyjnych. Wyniki moich badań nad zmiennością aktywności enzymów antyoksydacyjnych u chorych z rakiem jelita grubego, przedstawione w artykule (Załącznik 1a/l. IB22):

- *Diakowska D., Nienartowicz M., Grabowski K.: Activities of antioxidant enzymes in erythrocytes and tumor tissue in colorectal cancer patients. Gastroenterol.Pol. 2013 T.20 nr 1; s.10-14. Pkt. MNiSW/KBN: 7.000, (praca oryginalna)*

pokazały, że enzymy antyoksydacyjne mogą odgrywać odrębną rolę podczas rozwoju CRC. Wykazałam, że wysoka aktywność katalazy w tkance guza nowotworowego związana jest ze wzrostem stopnia rozwoju raka i obecnością przerzutów odległych. W wyniku reakcji katalizowanych przez katalazę w obszarze guza obniżeniu ulega stężenie nadtlenku wodoru, co stymuluje podziały komórek nowotworowych. Również w erytrocytach chorych z CRC wykazałam istotnie wyższe aktywności katalazy. Natomiast aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, przyczyniającej się do wzrostu stężenia nadtlenku wodoru w komórkach i do zahamowania proliferacji komórek raka, nie różniła się w tkance guza w porównaniu z tkanką zdrową oraz w erytrocytach pacjentów z CRC w porównaniu z grupą kontrolną. Chociaż aktywność peroksydazy glutationowej, enzymu obniżającego stężenie nadtlenku wodoru w komórkach, była także wyższa w tkance guza w porównaniu z tkanką zdrową, to moje dalsze badania wykazały, że decydujący wpływ na regulację poziomów nadtlenku wodoru w komórkach nowotworowych w CRC ma katalaza.

<sup>1</sup> Laurent A, Nicco C, Chereau C, et al.: Controlling tumor growth by modulating endogenous production of reactive oxygen species. Cancer Res. 2005;65:948-956.

5. Cykl publikacji dotyczący wskaźników stresu oksydacyjnego i cytokin prozapalnych w ostrym zapaleniu trzustki.

Współuczestniczyłam w badaniach nad znaczeniem cytokin prozapalnych i parametrów stresu oksydacyjnego jako markerów diagnostycznych zapalenia trzustki, zarówno o łagodnym, jak i ciężkim przebiegu.

O istotnej roli IL-8, jako czynnika prognostycznego przy pojawianiu się komplikacji w czasie leczenia pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki (*acute pancreatitis*, AP) o ciężkim przebiegu, a także o znaczeniu IL-6 i białka C-reaktywnego jako markerów stanu zapalnego w AP napisano w artykule (Załącznik 1a/l. IB16):

- Lewandowski A., Waclaw Kopeć, **Diakowska D.**, Maciej Garbień.: *Proinflammatory cytokines IL-6, IL-8 and C-reactive protein in acute pancreatitis- the role of IL-8 in prognosing complications. Gastroenterol.Pol. 2007 T.14 nr 3; s.165-169. Pkt. MNiSW/KBN: 5.000, (praca oryginalna)*

Natomiast w publikacji (Załącznik 1a/l. VA2):

- Lewandowski A., Markocka-Mączka K., Garbień M., **Diakowska D.**, Taboła R.: *Oxidative stress and antioxidative status in the acute pancreatitis. W:Acute pancreatitis ; ed. by Luis Rodrigo; Rijeka : InTech, 2011; s.115-140. ISBN 978-953-307-984-4. Pkt. MNiSW/KBN: 7.000, (monografia)*

wykazano, że wysokie stężenia jednego z parametrów stresu oksydacyjnego, 8-OHdG, we krwi i moczu chorych są wskaźnikami ciężkiego przebiegu i wzrostu ryzyka komplikacji u chorych z AP.

6. Cykl prac poświęcony analizie stężeń wybranych adipocytokin w surowicy osób dorosłych z otyłością pierwotną i u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.

Współuczestniczyłam w badaniach prowadzonych nad zjawiskiem otyłości jako czynnikiem zagrażającym zdrowiu i życiu we współczesnym świecie (Załącznik 1a/l. VA1 i XA1):

- Markocka-Mączka K., **Diakowska D.**, Taboła R., Lewandowski A., Grabowski K., Rodzeń M.: *Obesity and serum leptine concentration. W:Współczesne zagrożenia zdrowia : praca zbiorowa ; pod red. Marii Koziol-Montewki, Stanisławy Spisackiej; Biała Podlaska : Wydaw. PWSZ im. Papieża Jana Pawła II, 2008; s.129-139. ISBN 978-83-61044-40-6 Pkt. MNiSW/KBN: 7.000, (monografia)*
- Markocka-Mączka K., **Diakowska D.**, Lewandowski A., Taboła R., Rosińczuk-Tonderys J.: *Biochemical aspects of primary obesity. Pol.J.Envirn.Stud. 2010 Vol.19 no.5A; s.59-63. The Scientific Conference "Diseases resulting from incorrect nutrition as a thread for 21st century". Wisła (Poland), 17-18 January 2010. IF: 0.543. Pkt. MNiSW/KBN: 13.000, (publikacja w suplemencie czasopisma)*

W obu artykułach potwierdzono istnienie zależności między istotnie wysokim stężeniem leptyny we krwi a występowaniem nadwagi lub otyłości pierwotnej. Jednocześnie w grupie osób z otyłością pierwotną zaobserwowano obniżone stężenie krążącego we krwi receptora leptyny. Wykazano, że u

osób z otyłością pierwotną występuje nadekspresja leptyny w tkance tłuszczowej oraz wykształca się oporność na działanie tego hormonu.

Dzięki mojej współpracy z Katedrą i Kliniką Chirurgii Serca UM we Wrocławiu powstały publikacje, w których analizowano znaczenie adipocytokin w rozwoju choroby niedokrwiennej serca. Wykazano, że wzrost stężenia krążącej leptyny przy jednoczesnym obniżeniu stężenia adiponektyny i apeliny w surowicy jest charakterystyczny dla pacjentów z chorobą niedokrwinną serca (Załącznik 1a/l. IA8):

- *Rachwalik M., Diakowska D., Kustrzycki W.: Serum concentration of selected adipocytokines in patients with coronary artery disease suitable for surgical revascularization: a preliminary study. Kardiochir.Torakochir.Pol. 2011 T.8 nr 4; s.432-436. IF: 0.135. Pkt. MNiSW/KBN: 13.000, (praca oryginalna)*

Dalsze badania, porównujące stężenia adiponektyny, apeliny i rezystyny w tkance tłuszczowej nasierdza, tkance tłuszczowej zlokalizowanej przy tętnicy piersiowej wewnętrznej i tkance tłuszczowej podskórnej u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca leczonych operacyjnie pozwoliły na sformułowanie wniosku, że wzrost stężenia rezystyny w tkance tłuszczowej nasierdza może być związany z zaburzeniami w sygnalizacji parakrynej, wynikającymi z zaawansowanej miażdżycy i z przebytego zawału mięśnia sercowego (Załącznik 1a/l. IA14):

- *Rachwalik M., Zyśko D., Diakowska D., Kustrzycki W.: Increased content of resistin in epicardial adipose tissue of patients with advanced coronary atherosclerosis and history of myocardial infarction. Thorac.Cardiovasc.Surg. 2014 Vol.62 no.7; s.554-560 IF: 0.979 Pkt. MNiSW/KBN: 15.000, (praca oryginalna)*

#### Aktualnie prowadzone badania i plany naukowe

Obecnie prowadzone przeze mnie badania stanowią kontynuację wcześniejszych jak i zapoczątkowują nowe wątki badawcze:

Kontynuuję badania nad znaczeniem adipocytokin w rozwoju i progresji nowotworów górnego odcinka przewodu pokarmowego. Prowadzony obecnie projekt naukowy (lata 2014-2016) ma na celu analizę ekspresji leptyny, adiponektyny, apeliny i rezystyny w tkankach guza u pacjentów z rakiem przy pomocy technik: RT-PCR (ekspresja genów) i testów ELISA (ekspresja białek w homogenatach tkankowych).

Kolejnym realizowanym przez mnie projektem (lata 2014-2016) jest analiza ekspresji receptorów Toll-podobnych (*Toll-like receptors*, TLR) w tkance guza nowotworowego, w aspekcie ich wpływu na stymulację ludzkiego układu odpornościowego oraz na oddziaływanie tych czynników na proces rozwoju nowotworów. TLR usytuowane głównie w błonach monocytów, są receptorami rozpoznającymi ligandy patogenów, w tym bakterii. Wykazano, że TLR po połączeniu ze specyficznym ligandem aktywują szlak sygnalizacyjny białek adaptorowych stymulujący syntezę cytokin prozapalnych w monocytach i aktywację cząsteczek odpowiedzialnych za syntezę limfocytów T. Brak jest doniesień o roli, jaką mogą odgrywać TLR w rozwoju nowotworów przewodu pokarmowego, a

szczególnie w rozwoju ESCC. Prowadzone przeze mnie badania mają na celu określenie powiązań pomiędzy ekspresją TLR a parametrami klinicznymi i patologicznymi pacjentów z nowotworami przełyku, żołądka i jelita grubego. Technikami używanymi do analizy są: RT-PCR (ekspresja genów w tkankach) i testy ELISA (ekspresja białek w homogenatach tkankowych i stężenia białek w surowicy).

Uczestniczę również w badaniach nad rolą wybranych adipocytokin (wisfatyny i chimeryny) w patogenezie i rozwoju nieswoistych zapleń jelit i nowotworów jelita grubego.

Poprzez wykonanie analizy statystycznej danych i współudział w przygotowaniu publikacji jestem współautorem dwóch artykułów przygotowanych przez zespół Katedry i Kliniki Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Endokrynologicznej UM we Wrocławiu, pt. „*The reliability of fine needle aspiration biopsy as the preoperative procedure in patients with solitary and multiple malignant thyroid tumors*” i „*Clinical and histopathological characteristics of patients with incidental and nonincidental thyroid cancer*”. Oba artykuły zostały wysłane do czasopism z punktacją IF i w chwili obecnej są oceniane przez recenzentów.

Jako wolontariusz uczestniczący w dwóch programach badawczych Zintegrowanego Centrum Medycyny Naczyniowej „Wrovasc”, współfinansowanych przez Unię Europejską, kontynuuję badania laboratoryjne (testy aktywności enzymatycznej, oznaczenia stężenia białka i hemoglobiny) związane z oceną zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej u pacjentów z CRC poddanych zabiegowi resekcji guza metodą tradycyjną i za pośrednictwem robota da Vinci oraz u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.

#### **Podsumowanie dorobku naukowego:**

Jestem pierwszą autorką lub współautorką **50 pełnotekstowych publikacji naukowych**, w tym 26 opublikowanych w anglojęzycznych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports. Wśród moich publikacji 45 pozycji stanowią prace oryginalne, 3 pozycje to prace monograficzne, 1 pozycja to publikacja pełnotekstowa w suplemencie czasopisma i 1 pozycja to praca poglądowa.

**Sumaryczny Impact Factor publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem publikowania to 46.850** (z czego artykuły stanowiące osiągnięcie naukowe – 13.882).

**Liczba punktów MNiSW/KBN za pełne prace: 691** (z czego 157 punktów to prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego).

**Indeks Hirscha opublikowanych prac według bazy Web of Science: 10**

**Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science: 254** z autocytowaniami, **236** bez autocytowań (z czego 36 to cytowania artykułów wchodzących w skład osiągnięcia naukowego).

Raport cytowań z Web of Science z dnia 4 września 2015 r., godz. 17.10.

Web of Science [v.5.16.1]-Web of Science Core Collection Citation Report

04.09.2015 17:10

WEB OF SCIENCE™ THOMSON REUTERS™

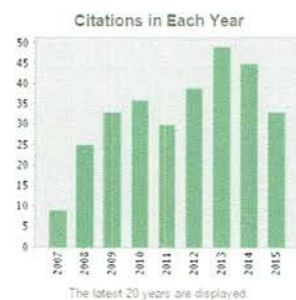
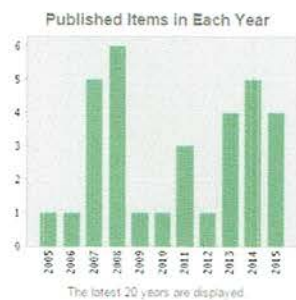
Search Return to Search Results My Tools Search History Marked List

Citation Report: 32

(from All Databases)

You searched for: AUTHOR: (Diakowska D\*) [...More](#)

This report reflects citations to source items indexed within All Databases.



Results found: 32  
 Sum of the Times Cited [?]: 299  
 Sum of Times Cited without self-citations [?]: 254  
 Citing Articles [?]: 254  
 Citing Articles without self-citations [?]: 236  
 Average Citations per Item [?]: 5.34  
 h-Index [?]: 16

Wykaz opublikowanych prac naukowych wraz z analizą bibliometryczną i wykazem cytowań znajdują się w Załączniku nr 3.

Dorota Diakowska