Dr hab.n.med. Andrzej Białek
Klinika Gastroenterologii
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
Ul. Unii Lubelskiej 1
Tel. 914253211
mail: andrzej.bialek@pum.edu.pl

Szczecin, 02.03.2024

Recenzja osiągnięcia naukowego i aktywności naukowej dr n. med. Liliany Łykowskiej-Szuber w związku z wnioskiem o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

Recenzję sporządzono w oparciu o przepisy Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. Ust. Nr 65 poz. 595), Ustawy z dn. 18 marca 2011r. o zmianie ustawy (Dz. Ust. Nr 84 poz. 455), oraz zgodnie z wymogami zawartymi w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 1 września 2011r. (Dz. Ust. Nr 196 poz. 1165) i zgodnie ze wskazówkami Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów (Komunikat nr 2/2012).

Informacje o Habilitantce.

Dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber swoją pracę naukowo-badawczą rozpoczęła już w trakcie studiów w ramach Studenckiego Koła Naukowego działającego w Katedrze i Klinice Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu gdzie współprowadziła badania m.in. w zakresie immunologii nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ). Już wtedy została współautoką prac prezentowanych na polskim i zagranicznym kongresach (X Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii. 2002, 10th UEGW, United European Gastroenterology Week 2002).

W 1999 roku ukończyła Wydział Lekarski Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Po ukończeniu stażu, w kwietniu 2001 roku rozpoczęła Studia Doktoranckie w tej samej klinice, zakończone 2006 roku obroną pracy doktorskiej, pt.: „Apoptoza i odpowiedź komórkowa limfocytów we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego”.

Po zakończeniu Studium Doktoranckiego kontynuowała pracę w Klinice na stanowisku starszego asystenta a od 2013 roku adiunkta, na którym jest zatrudniona do dnia dzisiejszego.

W 2007 roku uzyskała tytuł specjalisty w dziedzinie chorób wewnętrznych a w 2012 roku w dziedzinie gastroenterologii.

Od początku pracy naukowej, głównym obiektem zainteresowań badawczych habilitantki była problematyka nieswoistych chorób zapalnych jelit. W 2009 roku otrzymała grant Narodowego Centrum Nauki (NCN) w ramach którego badała rolę kopromarkerów w aspekcie ich przydatności w monitorowaniu skuteczności terapii przeciwciałami anty-TNF. W ramach swojej pracy badawczej współpracuje z innymi ośrodkami naukowymi tj Instytutem Mikroekologii w Poznaniu , Instytutem Mikroekologii w Herborn w Niemczech, i Instytutem Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Habilitantka uczestniczy aktywnie w kongresach i konferencjach naukowych zarówno krajowych, jak i zagranicznych, prezentując wyniki swoich prac. Ponadto jest autorką licznych publikacji przypadków klinicznych, prac poglądowych oraz artykułów oryginalnych w recenzowanych czasopismach krajowych i zagranicznych oraz autorem rozdziału w monografii , dotyczącej leków biologicznych. Poza działalnością kliniczną i naukową, prowadzi szereg aktywności, promujących naukę oraz popularyzujących wiedzę w zakresie diagnostyki i leczenia chorób przewodu pokarmowego; pełni funkcję redaktora współprowadzącego portalu internetowego Wydawnictwa Termedia , aktywnie wspierałam także działalność Wielkopolskiego Stowarzyszenia Colitis Ulcerosa i Choroby Leśniowskiego-Crohna, skupiającego pacjentów z NChZJ (Stowarzyszenia J-elita). W latach 2012-2014 wchodziła w skład Grupy Roboczej, Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii a w latach 2017 2021 roku pełniła funkcję przewodniczącej a następnie sekretarza Wielkopolskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii. Od roku 2019 pełnię funkcję prezesa „Fundacji Wspierania Poznańskiej Gastroenterologii". Jest także opiekunem Studenckiego Koła Naukowego Gastroenterologii i Dietetyki.

Ocena osiągnięcia naukowego

Wskazane przez dr n. med. Lilianę Łykowską-Szuber we wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego „Osiągnięcie Naukowe" jest cyklem pięciu publikacji pod wspólnym tytułem: **„Udział wariantów genów apoptozy oraz genów procesów zapalnych w pierwotne odpowiedzi na terapię anty-TNF u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna (ChLC)".**

1. Walczak Michał*, Łykowska-Szuber Liliana*, Plucińska Marianna, Stawczyk-Eder Kamila, Zakerska-Banaszak Oliwia, Eder Piotr, Krela-Kaźmierczak Iwona, Michalak Michał, Żywicki Marek, Karłowski Wojciech M, Szalata Marlena, Dobrowolska Agnieszka, Słomski Ryszard, Skrzypczak-Zielińska Marzena. Is polymorphism in the apoptosis and inflammatory pathway genes associated with primary response to anti-TNF therapy in Crohn's disease patients? Frontiers in Pharmacology 2020: Vol. 11, art. 1207 [s. 1-12], doi: 10.3389/fphar.2020.01207 IF: 5,081; punktacja MNiSW: 100, liczba cytowań 5 *autor równorzędny

2. Łykowska-Szuber L*, Walczak Michał*, Skrzypczak-Zielinska Marzena, Suszynska- Zajczyk, Joanna., Stawczyk-Eder Kamila, Waszak Katarzyna, Eder Piotr, Wozniak Anna, Krela-Kazmierczak Iwona, Słomski Ryszard, Dobrowolska Agnieszka. Effect of Anti-TNF Therapy on Mucosal Apoptosis Genes Expression in Crohn's Disease. Frontiers in Immunol. 2021;12:615539. doi:10.3389/fimmu.2021.615539 IF: 8,786; punktacja MNiSW: 140, liczba cytowań 9

*autor równorzędny

3. Łykowska-Szuber Liliana, Skrzypczak-Zielinska Marzena, Zuraszek Joanna, Walczak Michał Stawczyk-Eder Kamila, Krela-Kazmierczak Iwona, Michalak Michał, Słomski Ryszard, Dobrowolska Agnieszka. Association of the ILR1 and FAS genes variants with a primary non-response to Anti-TNF therapy in Crohn's disease patients. [published online ahead of print, 2023 Mar 14. Polish Archives of Internal Medicine]. 2023;16461. doi:10.20452/pamw.16461 IF: 4,8; punktacja MNiSW: 200, liczba cytowań 0

4. Łykowska-Szuber Liliana, Walczak Michał, Stawczyk-Eder Kamila, Krela-Kaźmierczak Iwona, Eder, Zakerska-Banaszak Oliwia, Dobrowolska Agnieszka, Skrzypczak-Zielinska Marzena. Variants of the CASP9 gene as candidate markers for primary response to anti- TNF therapy in Crohn's disease patients. Journal of Applied Genetics 2023;10.1007/s13353- 023-00783-7. doi:10.1007/s13353-023-00783-7 IF: 2,4; punktacja MNiSW: 140, liczba cytowań 0

5. Łykowska-Szuber Liliana, Walczak Michał, Dobrowolska Agnieszka, Skrzypczak- Zielińska Marzena. Apoptosis and inflammatory genes variants in primary non-response to anti-TNF therapy in Crohn’s disease patients. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2023;35(10):1088-1096. doi:10.1097/MEG.0000000000002618 IF: 2,586; punktacja MNiSW: 40, liczba cytowań 0

Sumaryczny wartość wskaźnika wpływu (IF), podana zgodnie z rokiem ukazana się publikacji wg Journal Citation Reports (JCR), wynosi 23,896 (punktacja MNiSW: 620). Liczba cytowań wynosi: 13.

Przedstawiony cykl prac, stanowiący osiągnięcie naukowe, ma na celu analizę przydatności wariantów wybranych genów apoptozy oraz genów czynników prozapalnych, w prognozowaniu odpowiedzi na terapię anty-TNF u pacjentów z ChLC.

W pierwszej pracy habilitantka podjęła próbę określenia wpływu zmienności genów kodujących białka zaangażowane w działanie TNF, kaskadę ekspresji, transmisję sygnału i metabolizm w odpowiedzi na terapię biologiczną lekami anty-TNF u pacjentów z ChLC.

Do badania włączono zostało 107 pacjentów z ChLC, hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Chorzy byli leczeni preparatami anty-TNF w ramach programu terapeutycznego Narodowego Funduszu Zdrowia. Kliniczną aktywność choroby oceniano za pomocą wskaźnika aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna (CDAI) , w badaniach endoskopowych (prosta ocena endoskopowa dla choroby Leśniowskiego-Crohna, SES-CD) oraz w badaniu enterografii rezonasu magnetycznego (MR) prostej oceny aktywności enterograficznej dla choroby Leśniowskiego-Crohna, SEAS-CD). Genomowe DNA od wszystkich badanych wyizolowane zostało z krwi obwodowej.

Wyniki naszych badań obejmujące sekwencje 23 wybranych genów wskazują, że warianty tylko pięciu genów (TNFRSF1B, FCGR3A, FAS, IL1R i IL1B) wykazują istotną asocjację z odpowiedzią na terapię anty-TNF. Geny te kodują głównie białka receptorowe (FcgRIII, TNFR2, IL1R-1) oraz dodatkowo cytokiny IL1B oraz Fas zaangażowane w proces apoptotyczny. W rzeczywistości zmienność genetyczna w receptorach może potencjalnie odpowiadać za zjawisko braku odpowiedzi, ponieważ jednym z możliwych mechanizmów braku odpowiedzi anty-TNF jest niewrażliwość limfocytów T na sygnały apoptozy.

W większości przypadków opisane warianty genetyczne znajdują się w regionach intronowych, 3'-UTR, a tylko jeden znajduje się w sekwencji eksonowej. obecnie należy zwrócić uwagę na warianty w regionach UTR, których rola została niedoceniona ze względu na skupienie się na regionach kodujących geny.

Wyniki te mogą jednak stanowić podstawę do dalszych badań, które mogą stać się istotnym krokiem w kierunku wykrycia biomarkerów predykcyjnych w leczeniu anty-TNF. Opisane warianty mogą prowadzić do zmiany aktywności białek, ostatecznie wpływając na mechanizm działania przeciwciał i wyjaśniać zjawisko oporności na terapię preparatami anty -TNF.

W kolejnej pracy dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber wykonała analizę funkcjonalną w biopsjach okrężnicy i w modelu in vitro. Analizowała dwa aspekty – czy leczenie anty-TNF zmieni poziom ekspresji interesujących genów i czy lek indukuje apoptozę w komórkach pobranych od pacjentów? Do badania włączono pacjentów z ChLC, leczonych przeciwciałami monoklonalnymi anty-TNF. Zostali oni przydzieleni do dwóch grup: Pierwsza 21 osób (14 osób reagujących i 7 niereagujących na terapię anty-TNF), w grupie tej badania przeprowadzono na materiale tkankowym pobranym podczas rutynowej kolonoskopii. Druga grupa obejmowała 14 pacjentów (siedmiu reagujących i siedmiu niereagujących na terapię anty-TNF), od których pobrano próbki krwi obwodowej do badań hodowli komórkowych. Poziom mRNA wybranych genów: ADAM17, FAS, FCGR3A, IL1B, IL1R i TNFRSF1B mierzono za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (qPCR) w czasie rzeczywistym.

Wyniki badań wykazały znaczne obniżenie ekspresji genów TNFRSF1B u osób niereagujących na terapię anty-TNF zarówno w tkankach zmienionych zapalnie, jak i w tkankach jelita nieobjętych procesem zapalnym. Ekspresja genów FCGR3A i IL1B była znacznie wyższa w tkankach zmienionych zapalnie u osób niereagujących na terapię.

Wyniki te pokazują, że zmieniona ekspresja genów TNFRSF1B, FCGR3A i IL1B może być predyktorem pierwotnego braku odpowiedzi na terapię anty-TNF u pacjentów z ChLC.

Zaobserwowano, że u pacjentów niereagujących na terapię następuje zmieniona ekspresja białek biorących udział w procesie apoptozy i eliminacji komórek prozapalnych na poziomie tkanki błony śluzowej jelit. Być może ocena odpowiedniego panelu genów apoptotycznych będzie w przyszłości cennym markerem dla przewidywania skuteczności terapii przeciwciałami anty-TNF u pacjentów z ChLC.

Celem kolejnej pracy była próba odpowiedzi na pytanie, czy mechanizm braku odpowiedzi na terapię anty- TNF u pacjentów z ChLC może być zależny od aktywacji genów szlaków zapalnych oraz apoptozy, których polimorfizmy zidentyfikowano w poprzednim badaniu.

Do badania zostało włączonych 196 pacjentów leczonych przeciwciałami monoklonalnymi anty-TNF. Amplifikację regionów DNA zawierających loci FCGR3A, IL1R, TNFSF1B, IL1B, FAS i ADAM17 przeprowadzono przy użyciu starterów zaprojektowanych w oprogramowaniu Primer3

W badanej grupie pacjentów 33 osoby (16,8%) nie odpowiedziały na terapię indukcyjną. Brak odpowiedzi związany był z allelem G wariantu rs2041747 w genie ILR1. Co więcej wykazaliśmy, iż homozygota CC wariantu rs7896789 w genie FAS związana jest z brakiem odpowiedzi na terapię anty-TNF, natomiast homozygota TT może działać jako genotyp ochronny.

Wykazano, że w odpowiedzi pacjentów z ChLC na terapię anty-TNF uczestniczą uwarunkowania wielogenowe i wydaje się, że zasadniczy udział mają geny zaangażowane w proces apoptozy. Geny FAS i ILR1 stanowią wartościowy kierunek dalszych badań.

W kolejnej pracy habilitantka podjęła próbę oceny znaczenia polimorfizmów genu Casp 9, kluczowego elementu wewnętrznego szlaku apoptozy, w odpowiedzi na terapię anty- TNF.

Celem badań była ocena, czy warianty genu CASP9, kluczowej proteinazy odpowiedzialnej za indukcję wewnętrznego szlaku apoptozy, mogą być jedną z przyczyn braku pierwotnej odpowiedzi na terapię anty-TNF u pacjentów z ChLC.

Wyniki badania wykazały związek wariantów rs1052571 i rs4645978 genu Casp 9 z odpowiedzią na przeciwciała monoklonalne anty-TNF. Ponadto zaobserwowano tendencję do zmniejszonej jego ekspresji po inkubacji z anty-TNF w grupie pacjentów z ChLC nieodpowiadających na terapię, w przeciwieństwie do grupy kontrolnej. Wyniki te sugerują, że odpowiedź na terapię anty-TNF u pacjentów z ChLC może być efektem wariantów genu CASP9, jako kluczowego efektora wewnętrznego szlaku apoptozy. Praca ta zwraca uwagę badaczy, na znaczenie wariantów genów wewnętrznego szlaku apoptozy, jako istotnych w odpowiedzi na leki anty-TNF u pacjentów z ChLC.

Celem kolejnej ostatniej pracy Habilitantki, ujętej w osiągnięciu naukowym, jest przegląd aktualnej wiedzy i badań na temat roli farmakogenetyki w odpowiedzi na terapię anty- TNF w ChLC, ze szczególnym uwzględnieniem aspektu apoptozy i genów cytokin prozapalnych. Stanowi ona zwięzłe podsumowanie aktualnej wiedzy na temat badań farmakogenetycznych obejmujących polimorfizmy genów szlaku apoptozy oraz szlaków cytokin prozapalnych.

Obydwa elementy są kluczowe w mechanizmie działania leków anty-TNF. Dlatego też wydaje się bardzo prawdopodobnym, że geny w nie zaangażowane mogą tutaj mieć duże znaczenie. W publikacji dokonano krytycznego przeglądu danych literaturowych, z uwzględnieniem wcześniejszych odkryć własnych. Praca ta stanowi także podsumowanie własnych badań i określa ich miejsce w badaniach nad przydatnością biomarkerów genetycznych w prognozowaniu odpowiedzi na anty-TNF. Pomimo szeroko zakrojonych badań w tym zakresie badania farmakogenetyczne nadal nie zostały wdrożone w codziennej

praktyce klinicznej u pacjentów z ChLC. Jednak obserwując aktualny nurt badawczy, wydaje się wysoce prawdopodobne, że takie biomarkery zostaną wkrótce zidentyfikowane. W prowadzonych badaniach, Autorka wykazała nowy zestaw nieopisanych wcześniej wariantów genów szlaku apoptozy i cytokin prozapalnych. Udział tych odkryć jest istotny, dla określenia nowych kierunków badań, dążących do zastosowania medycyny spersonalizowanej w terapii biologicznej pacjentów z ChLC.

Ocena aktywności naukowej

Habilitantka już w okresie studiów rozpoczęła aktywną działalność naukową. Początkowo tematem zainteresowań, były zaburzenia hormonalne u pacjentów z marskością wątroby a także wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (WZJG). Przeprowadzone badania, wykazały, iż u mężczyzn z zaawansowaną marskością wątroby, stwierdza się obniżone stężenie testosteronu, przy równoczesnym wzroście białka wiążącego hormony płciowe (SHBG – Sex Hormone Binding Globulin), zahamowania profilu dobowego wydzielania kortyzolu.oraz zmniejszenie stężeń wolnych hormonów tarczycy zarówno fT3 jak i fT4. Stwierdzono także istotnie obniżone stężenie wolnych hormonów tarczycy (fT3, fT4) u osób z aktywnym i ciężkim przebiegiem wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Wyniki badań prezentowane były na konferencjach krajowych i zagranicznych.

Kolejnym zakresem badań w początkowych latach kariery naukowej Habilitantki były badania na temat otyłości w wybranych populacjach. Na podstawie prowadzonych badań wykazano, iż w grupie po redukcji masy ciała, stężenie rezystyny ulega obniżeniu, wzrasta natomiast stężenie receptora leptyny. Zmiany te związane są najprawdopodobniej z lepszym profilem metabolizmu glukozy i zwiększa wrażliwość tkanek na działanie insuliny, co ma związek z redukcją masy ciała i poprawą stanu metabolicznego. Wykazano ponadto, iż u kobiet po redukcji masy ciała występuje duża częstość lęku (43%). Może to wiązać się z obawą przed utrzymaniem osiągniętej masy ciała, jak i też utrzymaniem zmian w nawykach żywieniowych. Wyniki powyższych badań zostały zaprezentowane w postaci doniesień zjazdowych.

Kolejne badania na temat udziału procesu apoptozy oraz odpowiedzi komórkowej limfocytów we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego były podstawą do obrony pracy doktorskiej przez dr n. med. Lilianą Łykowską-Szuber. W badaniu wykazała statystycznie wyższy index apoptozy (AI) w grupie pacjentów z WZJG w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdziła statystycznie istotną różnicę AI pomiędzy rzutem lekkim choroby a rzutem ciężkim oraz pomiędzy pacjentami w ciężkim rzucie choroby a grupą kontrolną. Najwyższy indeks AI stwierdzany był u pacjentów z rzutem ciężkim choroby.Wykazała też statystycznie wyższy AI u pacjentów leczonych operacyjnie w porównaniu z pacjentami leczonymi w sposób zachowawczy, co miało najprawdopodobniej związek z ciężkim przebiegiem choroby.

Na podstawie wyników naszych badań wykazano, iż u chorych na WZJG ma miejsce znacznie nasilona eliminacja komórek nabłonka jelita grubego w procesie apoptozy. Fakt ten może świadczyć o tym,

że proces apoptozy w tej chorobie może stanowić istotny element w jej patogenezie. Wyniki pracy były prezentowane na wielu konferencjach krajowych jak i zagranicznych.

Ponadto Habilitantka w swojej analizie wykazała, że u chorych na wrzodziejące zapalenie jelita grubego, zarówno we krwi obwodowej jak i w tkance jelita grubego wzrasta współczynnik limfocytów T CD4+/CD8+. Świadczy to o udziale limfocytów T CD4+ w patogenezie tej choroby. Współczynnik limfocytów T CD4+/CD8+ nie ulega zmianie w zależności od aktywności choroby, ani od formy zastosowanej terapii. Nie jest więc bezpośrednio związany z ciężkością przebiegu choroby. Limfocyty T CD4+ mogą być odpowiedzialne przede wszystkim za inicjację choroby. Świadczyć o tym może wzrost współczynnika limfocytów T CD4+/CD8+ w tkance jelita grubego w pierwszym roku trwania choroby oraz w przypadkach, kiedy zmiany zapalne ograniczone są wyłącznie do odbytnicy.

Kolejny obszar zainteresowań Habilitantki to badania nad rolą bakterii Faecalibacterium praustnitzi w patogenezie choroby Leśniowskiego-Crohna. Badania te były prowadzone były we współpracy Instytutem Mikroekologii w Herborn w Niemczech oraz Instytutem Mikroekologii w Poznaniu.

W badaniu tym wykazano różnice w ilościowym składzie flory bakteryjnej jelit u chorych z ChLC w porównaniu z warunkami fizjologicznymi. Faecalibacterium prausnitzi był identyfikowany znamiennie rzadziej u chorych z ChLC, niż w organizmach zdrowych. Potwierdzać to może ważną rolę F. prausnitzi, jako patogenu „ochronnego" dla przewodu pokarmowego a zaburzenia w składzie mikroflory jelitowej mogę odgrywać kluczową rolę w patogenezie zapalenia u chorych z ChLC.

Badania na temat składu mikrobiomu jelit, nadal są tematem zainteresowań badawczych Habilitantki. Obecnie pracuje nad porównaniem mikrobiomu pacjentów z WZJG oraz ChLC a także nad wpływem zakażenia Sars Cov-2 na zmiany mikrobiomu i metabolomu, przede wszystkim w aspekcie objawów IBS. Częściowe wyniki badań są już w trakcie analizy oraz w trakcie zbierania materiału badawczego.

Kolejnym tematem zainteresowań badawczych dr n. med. Liliany Łykowskiej-Szuber w zakresie nieswoistych chorób zapalnych jelit był aspekt osteoporozy.

W prowadzonych badaniach wykazała, iż w populacji chorych z NChZJ stwierdza się niższe wartości kalcemii i fosfatemii, w porównaniu z osobami zdrowymi. Ponadto ma miejsce zaburzenie fizjologicznej regulacji gospodarki wapniowo-fosforanowej, w której kluczową rolę odgrywa witamina D oraz parathormon

W grupie chorych z ChLC dokonała także oceny stężeń innych cytokin, takich jak interleukiny-13 (IL-13), IL-4, IL-17, IL-1β, w odniesieniu do pomiarów densytometrycznych i aktywności choroby. Wykazała m.in., że IL-1β, IL-4 oraz IL- 13 mogą być powiązane z zaburzeniami gęstości mineralnej kości w ChLC.

Wyniki prowadzonych badań potwierdzają rolę zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej w patogenezie osteoporozy oraz osteopenii w grupie pacjentów z NChZJ. Odpowiednio dobrane badania i

prawidłowa suplementacja witamin i mikroelementów, może przyczyniać się do zmniejszenie powikłań pozajelitowych jakimi są zaburzenia metabolizmu kostnego.

W kolejnych etapach badani analizowano podłoże genetyczne zaburzeń gęstości mineralnej w populacji pacjentów z NChZJ. Badania te prowadzone były we współpracy z Instytutem Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk. Zaobserwowano, że kobiety z ChLC charakteryzowały się najniższymi parametrami gęstości kości, co odpowiadało dawce alleli ESR1 c.454-397T i c.454-351A. Haplotyp PvuII i XbaI TA (px) genu ESR1 korelował z obniżonym wskaźnikiem T-score szyjki kości udowej (OR = 2,75, CI = [1,21-6,27], wartość P = 0,016) i może przewidywać osteoporozę u pacjentek z ChLC.

Wyniki tych badań przyczyniły się do lepszego poznania patogenezy współwystępowania osteoporozy u pacjentów z NChZJ. Ma to duże znaczenie w planowaniu opieki nad tymi pacjentami, umożliwiając być może wyodrębnienie grup pacjentów, u którzy wymagają większego nadzoru i szybszej profilaktyki osteoporozy.

Bardzo ważnym elementem pracy naukowej dr n. med. Liliany Łykowskiej-Szuber, były badania przydatności kopromarkerów w diagnostyce chorób przewodu pokarmowego. Badania prowadzone były w ramach W 2009 roku grantu Narodowego Centrum Nauki (NCN) nr NN402481637. Wykazano m.in., że kalprotektyna może być przydatna w różnicowaniu zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego z ChLC oraz że jest czułym markerem korelującym z podstawowymi parametrami, oceniającymi aktywność schorzenia zapalnego, takimi jak CRP oraz hemoglobina. Były to jedne z pierwszych tego typu analiz w Europie Środkowej, a wyniki pracy były cytowane w wielu renomowanych czasopismach medycznych. W badaniu wysunięto wniosek, że kopromarkery są pomocne w monitorowaniu terapii anty-TNF, a preferowanymi białkami do oznaczania w kale powinny być kalprotektyna i laktoferyna. Warto zaznaczyć, iż badania te były pionierskimi w tym zakresie. Obecnie kopromarkery, w tym głównie kalprotektyna, używane są w codziennej praktyce klinicznej. Wykorzystuje się je zarówno w diagnostyce różnicowej chorób jelit, jak i w monitorowaniu skuteczności terapii biologicznej w programach terapeutycznych. Ich użycie pozwala na zmniejszenie konieczności wykonywania obciążających badań endoskopowych oraz zmniejszenie kosztów prowadzenia pacjentów z NChZJ.

Kontynuując swoje wcześniejsze zainteresowania, Habilitantka prowadziła badania nad rolą procesu apoptozy w patogenezie choroby Leśniowskiego-Crohna oraz jako mechanizmu działania terapeutycznego przeciwciał anty-TNF. Wykorzystując metody immunohistochemiczne, badała ekspresję białek zaangażowanych w proces apoptozy w komórkach nacieku zapalnego w ChLC.

Wykazała, iż limfocyty blaszki właściwej w ChLC charakteryzują się istotnie większą opornością na programowaną śmierć komórkową w porównaniu z limfocytami u osób zdrowych. Wykazała także, że u chorych z ChLC, u których w wyniku zastosowania leków anty-TNF udaje się uzyskać głęboką remisję, dochodzi w zmienionych chorobowo tkankach do istotnego spadku ilości komórek CD4 i CD8- dodatnich, co jest skorelowane ze znamiennym wzrostem ekspresji aktywnej kaspazy 3. Świadczy to o indukcji apoptozy w komórkach nacieku zapalnego w ChLC, co może mieć kluczowe znaczenie w działaniu terapeutycznym tej grupy leków.

W odniesieniu natomiast do enterocytów, leczenie anty-TNF prowadziło do uszczelnienia bariery nabłonkowej poprzez istotne zmniejszenie apoptozy tej grupy komórek, co było skorelowane ze zmianami ekspresji receptora TNFR1. Zaburzona programowana śmierć komórkowa limfocytów jest efektem lokalnie działających bodźców prozapalnych tylko w tkankach zmienionych chorobowo, a nie uogólnionym, pierwotnym defektem tej populacji komórkowej u chorych z ChLC. Tak więc leki anty-TNF „uwrażliwiają" na apoptozę tylko komórki immunologiczne zaangażowane w proces zapalny, działając w ten sposób selektywnie.

Uzupełnieniem prowadzonych badań, były także badania nad wpływem terapii anty-TNF na wybrane aspekty angiogenezy u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna.

W tym celu oznaczono stężenie wybranych kluczowych cytokin, regulujących proces angiogenezy (m.in. vascular endothelial growth factor - VEGF, angiopoetynę I i II, basic fibroblasts growth factor – bFGF czy hsTNF). Stwierdzono, że wyjściowe wartości stężeń VEGF w surowicy, mogą mieć także wartość prognozującą na odpowiedź na terapię anty-TNF. W podgrupie z wyjściowo wyższymi stężeniami VEGF redukcja aktywności ChLC pod wpływem leków anty-TNF była istotnie silniej wyrażona, a wśród pacjentów z niższymi wartościami VEGF - odsetek braku odpowiedzi był znamiennie wyższy

Ponadto dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber prowadziła rozległe badania nad markerami skuteczności terapii anty-TNF alfa choroby Leśniowskiego –Crohna. Na ich podstawie wyciągnęła wniosek, iż najprawdopodobniej inne niż neutralizacja sTNF, mechanizmy odpowiadają za działanie tej grupy leków. Kluczowe znaczenie może dla skuteczności terapii, może mieć neutralizacja błonowej formy TNF.

Kolejnym badanym markerem odpowiedzi na terapię lekami anty -TNF był czynnik TFF-3 (ang. trefoil factor-3). Odzwierciedla on integralność bariery jelitowej. Wysunięto hipotezę, iż może to być czuły marker gojenia śluzówkowego, czyli punktu docelowego w terapii biologicznej. W badaniach nie udało się potwierdzić jednak przydatności tego czynnika w prognozowaniu odpowiedzi na terapię lekami anty -TNF.

Kolejnym, bardzo interesującym obszarem badań dr n. med. Liliany Łykowskiej-Szuber była przydatność rezonansu magnetycznego w ocenie aktywności choroby Leśniowskiego– Crohna. We współpracy z Katedrą i Zakładem Radiologii UMP stworzono autorską skalę aktywności ChLC w enterografii MR – Simple Enterographic Activity Score for Crohn's Disease (SEAS-CD), jej przydatność i wiarygodność porównano z oceną endoskopową jelita cienkiego. Dokonano także oceny wartości prognostycznej poszczególnych wykładników zaawansowania zmian zapalnych i podjęto próbę analizy przydatności skali enterograficznej w prognozowaniu długoletnich odpowiedzi na roczną terapię anty-TNF u osób nieleczonych dotąd biologicznie Zdefiniowano nowe pojęcie kliniczne – tzw. gojenia jelitowego (ang. intestinal healing),

Habilitantka, dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber, w swojej pracy badawczej oceniła także bezpieczeństwo terapii biologicznej w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. Nie wykazała, aby odsetek

zdarzeń niepożądanych oraz skuteczność terapii różniły się znamiennie u chorych leczonych oryginalnym preparatem infliksymabu, biopodobnym infliskymabem czy adalimumabem. Zebrane dane potwierdzają, że leki anty-TNF, stosowane u najcięższej chorych pacjentów z NChZJ, są bezpieczne. Efeketem zainteresowań i badań nad bezpieczeństwem leków biopodobnych w leczeniu pacjentów z NChZJ, był mój udział w pracach grupy powołanej przez konsultanta krajowego, której celem było wypracowanie stanowiska w tym temacie.

Obszarem interdyscyplinarnym, którym zajmowała się dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber były badania nad leczeniem przetok w chorobie Leśniowskiego-Chrohna. Na ich podstawie wysunęła wnioski, iż paliatywna i skojarzona terapia przetok odbytu w chorobie Leśniowskiego-Crohna z leczeniem chirurgicznym i terapią infliksymabem lub adalimumabem jest skuteczną metodą leczenia u części pacjentów.Wykazała także skuteczność terapii minimalnie inwazyjnej, jaką jest metoda vacum w terapii skojarzonej z lekami biologicznymi.

Kolejne badania na temat predyspozycji genetycznych do odpowiedzi na leki anty TNF dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber rozpoczęła z Instytutem Genetyki Człowieka PAN od zaprojektowania i optymalizacji metodologii umożliwiającej szersze zastosowanie badań farmakogenetycznych u pacjentów poddawanych terapii biologicznej. Wykazała bardzo czułe, elastyczne, szybkie i ekonomiczne podejście do badań farmakogenetycznych terapii anty-TNF. przy użyciu bibliotek amplikonów i technologii NGS. Wyniki pracy stały się podstawą do kontynuacji i rozszerzenia dalszych badań.

Prowadzone obecnie przez Habilitantkę badania koncentrują się na ocenie długotrwałych gastroenterologicznych powikłań COVID-19 i obejmują także pacjentów z NChZJ leczonych biologicznie. Ich celem jest ocena wpływu powyższego zakażenia na przebieg choroby zasadniczej: czy przechorowanie COVID-19 u pacjentów z NZChJ prowadzi do trwałych zmian składu mikrobioty jelitowej, a co za tym idzie – metabolomu, predysponujących do objawów zespołu jelita nadwrażliwego? Aktualnie kierunek badań ma na celu przeprowadzenie analizy, czy skład mikrobiomu wiąże się z odpowiedzią na terapię biologiczną lekami anty-TNF

Całkowity IF razem z cyklem prac stanowiących osiągnięcie naukowe: 130,833

Całkowita punktacja MNiSW razem z cyklem prac stanowiących osiągnięcie naukowe: 2917

Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej.

Analiza przedstawionej dokumentacji wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego dr n. med. Liliany Łykowskiej-Szuber wskazuje na aktywność Habilitantki nie tylko w obszarze profesjonalnym i naukowym ale także dydaktycznym.

Jest lub była kierownikiem i wykonawcą 11 grantów, badań i projektów klinicznych, recenzentem prac w czasopismach medycznych z wysokim IF, współorganizatorem konferencji i sympozjów naukowych a także aktywnie uczestniczy w wielu konferencjach naukowych. Otrzymała także za swoją pracę liczne prestiżowe nagrody i wyróżnienia, m.in Rektora Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, za wybitne osiągnięcia.

Habilitantka pełni także funkcje opiekuna specjalizacji młodszych lekarzy, opiekuna koła naukowego i promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim. Jest członkiem towarzystw naukowych, m.in. European Crohn´s and Colitis Organisation.

Pomimo swojego zaangażowania naukowego i dydaktycznego typowo akademickiego, znajduje pasję i czas na działalność popularyzacyjną, m.in. przez portale internetowe dedykowane pacjentom, wykłady dla Uniwersytetu Trzeciego Wieku czy spotkania z pacjentami zrzeszonymi w Towarzystwie J-elita.

Podsumowanie

Dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber jest lekarzem o wysokich kwalifikacjach zawodowych i naukowych. Przedstawione we wniosku osiągnięcia naukowe dr n. med. Liliany Łykowskiej-Szuber potwierdzają jej konsekwentny, dynamiczny rozwój i właściwy przebieg kariery akademickiej. Dorobek publikacyjny składający się na „osiągnięcie naukowe" oraz charakteryzujący „aktywność naukową" Habilitantki jest w znacznej mierze nowatorski i wnosi istotny wkład w rozwój nauk medycznych, a w szczególności gastrologii. Oprócz walorów poznawczych wyznacza kierunki praktyczne, szczególnie w dziedzinie diagnostyki i leczenia nieswoistych chorób jelit. Ocena parametryczna dorobku naukowego i wskaźnik oddziaływania prac (IF) wynoszący 130, 8 stanowi o wysokiej pozycji dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber w rankingu pracowników nauki, ubiegających się o stopień doktora habilitowanego. Biorąc pod uwagę zaangażowanie i konsekwentnie prowadzone badania, można wnioskować, że dalszy rozwój Habilitantki będzie równie dynamiczny i owocny.

Biorąc powyższe pod uwagę, stwierdzam, że dr n. med. Liliana Łykowska-Szuber spełnia wymagania określone ustawami o stopniach i tytule naukowym i popieram wniosek o dopuszczenie Habilitantki do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.