

Białystok, dn. 10.02.2023r.

Dr hab.n.med. Renata Zalewska

Klinika Okulistyki

Uniwersytetu Medycznego

w Białymstoku

**Ocena dorobku naukowego i dydaktyczno-organizacyjnego  
w postępowaniu habilitacyjnym dr n. med. Anny Markiewicz**

Zgodnie z postanowieniem Rady Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie z dnia 15 listopada 2022r. powierzającej mi zrecenzowanie w postępowaniu habilitacyjnym dorobku naukowego i dydaktyczno-organizacyjnego dr n.med. Anny Markiewicz, po przestudiowaniu nadesłanych mi materiałów mam zaszczyt przedstawić swoją opinię.

Dr n. med. Anna Markiewicz uzyskała dyplom lekarza z wynikiem bardzo dobrym na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie w 1997 roku. Rok później, po ukończeniu stażu podyplomowego, podjęła pracę jako asystent w Oddziale Klinicznym Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. W roku 2006 zdała z wynikiem bardzo dobrym egzamin specjalizacyjny uzyskując tytuł specjalisty w dziedzinie okulistyki.

W 2008 roku uzyskała stopień doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy pt. „Rola ultrasonografii dopplerowskiej w diagnostyce różnicowej guzów wewnątrzgałkowych u dorosłych” .

Zainteresowania zawodowe dr Anny Markiewicz są ściśle związane z onkologią okulistyczną - dziedziną bardzo trudną zarówno diagnostycznie jak i terapeutycznie. Oddział Kliniczny Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie, z którym Habilitantka jest związana od początku swojej drogi zawodowej stanowi ogólnopolskie centrum diagnostyki i leczenia nowotworów narządu wzroku. Ośrodek krakowski cieszy się ogromnym uznaniem i szacunkiem lekarzy okulistów w kraju i zagranicą.

Większość dorobku naukowego dr Anny Markiewicz dotyczy problemów diagnostycznych, terapeutycznych i prognostycznych w onkologii okulistycznej. Prace badawcze Habilitantki są odzwierciedleniem poszukiwania nowych czynników diagnostycznych i rokowniczych dotyczących czerniaka błony naczyniowej oka mogących przynieść w przyszłości wymierne korzyści kliniczne pacjentom .

### **Ocena pracy habilitacyjnej -osiągnięcia naukowe**

Tytuł osiągnięcia naukowego będącego podstawą do wnioskowania o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego dr n.med. Anny Markiewicz to: **„Rola nowych czynników diagnostycznych i prognostycznych w czerniaku błony naczyniowej”**.

Cykl przedstawionych trzech prac naukowych będących podstawą osiągnięcia naukowego jest spójny tematycznie.

W skład osiągnięcia wchodzi:

**1. Markiewicz Anna, Donizy Piotr, Nowak Monika, Krzyziński Mateusz, Elas Martyna, Płonka Przemysław M, Orłowska-Heitzmann Jolanta, Biecek Przemysław, Hoang Mai P, Romanowska –Dixon Bożena. Amelanotic Uveal Melanomas Evaluated By Indirect Ophthalmoscopy Reveal Better Long-Term Prognosis Than Pigmented Primary Tumours-A Single Centre Experience. Cancers 2022,14, 2753. (IF:6.639;MNI SW:140.000)**

2. **Markiewicz Anna**, Donizy Piotr, Elas Martyna, Orłowska- Heitzmann Jolanta, Biecek Przemysław, Romanowska-Dixon Bożena. Nuclear pseudoinclusions and intranuclear grooves have an important impact on the long-term survival rate of uveal melanoma patients. *Anticancer Res* January 2021:41(1)517-526

(IF:2.480;MNiSW:70.000)

3. **Markiewicz Anna**, Brożyna Anna A., Podgórska Ewa, Elas Martyna, Urbańska Krystyna, Jetten Anton M., Słominski Andrzej T., Jóźwicki Wojciech, Orłowska-Heitzman Jolanta, Dyduch Grzegorz, Romanowska-Dixon Bożena. Vitamin D receptors (VDR), hydroxylases CYP27B1 and CYP24A1 and retinoid-related orphan receptors (ROR) level In human uveal tract and ocular melanoma with different melanisation levels. *Scientific Reports* 2019 (9);9142.

(IF:3.998; MNiSW:140.000)

Cykl prac tworzących osiągnięcie naukowe, które stanowi indywidualny wkład w naukę i rozwój wiedzy oraz dotyczy roli nowych czynników w diagnostyce i ocenie rokowania u pacjentów z rozpoznaniem czerniakiem błony naczyniowej oka ma łączną punktację IF: 13. 117 pkt. MNiSW: 350. 000 .

Rokowanie w przypadku czerniaka błony naczyniowej oka- najczęstsze go wewnątrzgałkowego guza złośliwego u dorosłych jest uzależnione od czynników histopatologicznych, genetycznych i klinicznych.

Celem projektu badawczego, którego wyniki Habilitantka zamieściła w pierwszej pracy z cyklu tworzącego osiągnięcie naukowe było określenie parametru rokowniczego, który mógłby mieć wpływ na wybór sposobu leczenia i monitorowania pacjenta a jednocześnie byłby prosty, dostępny i nieskomplikowany w ocenie.

W poszukiwaniu czynnika prognostycznego spełniającego powyższe kryteria przeanalizowano stopień pigmentacji czerniaka błony naczyniowej oka. Wyodrębniono dwie grupy guzów: amelanotyczne i pigmentowane. Ich pigmentacja była oceniana za pomocą oftalmoskopii pośredniej. Analizowano statystyczne zależności parametrów klinicznych, histopatologicznych i czasu przeżycia w dwóch grupach . W przedstawionej pracy Habilitantka wykazała

związek stopnia ubarwienia guza z cechami klinicznymi i histopatologicznymi oraz czasem przeżycia. Amelanotyczne czerniaki błony naczyniowej mają lepsze rokowanie w niższym stopniu zaawansowania ( II wg AJCC), natomiast stopień pigmentacji nie ma wpływu na długość przeżycia oraz ryzyko powstania przerzutów w wyższym stadium zaawansowania nowotworu. Atypowe amelanotyczne znamiona mogą być dłużej obserwowane w przeciwieństwie do silnie pigmentowanych, leczenie których powinno być szybciej rozpoczęte. Wniosek, jaki płynie z przeprowadzonych przez dr Annę Markiewicz badań, dotyczący rekomendacji wprowadzenia oceny stopnia ubarwienia guza w oftalmoskopii pośredniej jako istotnego czynnika prognostycznego jest ze wszech miar uzasadniony.

Zamierzeniem projektu przedstawionego w drugiej pracy Habilitantki było określenie nowych patomorfologicznie cech, które przeanalizowane w badaniu histopatologicznym preparatów otrzymanych po usunięciu gałki ocznej z powodu czerniaka błony naczyniowej, miałyby wartości prognostyczne. Uwagę Habilitantki zwróciły dwie cechy dotyczące jądra komórkowego występujące w pewnych typach nowotworów a mianowicie : pseudoinkluzje wewnątrzjądrowe ( nuclear pseudoinclusions (NPIs)) oraz bruzdy wewnątrzjądrowe ( nuclear grooves (NGs)). Analizując związek pomiędzy obecnością NPIs i NGs a cechami histopatologicznymi zaobserwowano liczne istotne korelacje. Obecność NPIs pozytywnie korelowała z mieszanym i epitelioidalnym typem czerniaka, zwiększonym polimorfizmem komórkowym, obecnością olbrzymich komórek wielojądrzastych, obecnością dużych i licznych jąderek oraz zwiększoną zawartością melaniny w komórkach guza. Wszystkie wymienione cechy, które pozytywnie korelują z NPIs są niekorzystne rokowniczo. Z kolei obecność NGs w komórkach czerniaka błony naczyniowej wiązała się z istotnie rzadszym występowaniem niekorzystnych prognostycznie cech histopatologicznych.

Przedstawione przez dr Annę Markiewicz badania są pierwszymi w piśmiennictwie, które tak obszernie charakteryzują obecność pseudoinkluzji wewnątrzjądrowych ( NPIs) i bruzd wewnątrzjądrowych (NGs) w komórkach czerniaka błony naczyniowej, a także ich związek z cechami klinicznymi i histopatologicznymi. Wykazano, że wykrycie NPIs oraz NGs w najprostszym badaniu histopatologicznym z barwieniem hematoksyliną i eozyną preparatów

usuniętego guza może dostarczyć informacji dotyczących rokowania w czerniaku błony naczyniowej.

W następnej pracy cyklu naukowego Habilitantka przeprowadziła badania nad obecnością szlaków metabolicznych witaminy D w prawidłowej błonie naczyniowej oraz czerniaku błony naczyniowej. Oceniano ekspresję receptorów witaminy D (VDR), hydroksylaz aktywujących i inaktywujących witaminę D (odpowiednio CYP27B1 i CYP24A1) oraz receptorów (orphan receptors-ROR) związanych z kwasem retinowym (ROR alfa i ROR gamma) w tych tkankach. Przeanalizowano ekspresję VDR, CYP27B1, CYP24A1 i ROR w odniesieniu do poziomu melaniny, stopnia zaawansowania i rokowania w czerniaku błony naczyniowej.

Habilitantka przedstawiła dowody na istnienie szlaków metabolicznych witaminy D *in vivo* w prawidłowych melanocytach i fibroblastach oraz w nowotworze, jakim jest czerniak błony naczyniowej. Wykazano, że poziomy receptorów VDR, CYP24A1, CYP27B1 i ROR zawsze były mniejsze w komórkach czerniaka błony naczyniowej, natomiast większe w prawidłowych melanocytach i innych prawidłowych komórkach.

Powyższe opracowanie jest pierwszym opublikowanym, które przedstawia obecność składowych szlaku metabolicznego witaminy D w czerniaku błony naczyniowej oraz charakteryzuje zależności pomiędzy nimi a cechami klinicznymi i histopatologicznymi nowotworu.

Cykl trzech prac naukowych przedstawionych przez dr n. med. Annę Markiewicz, nawiązując do różnych obszarów diagnostycznych czerniaka błony naczyniowej, tworzy tematyczną całość, jest spójny i konwenuje z ideą określenia roli nowych czynników diagnostycznych i prognostycznych najczęstszego pierwotnego, złośliwego nowotworu wewnątrzgałkowego u osób dorosłych.

Zaprezentowane przez dr n. med. Annę Markiewicz wyniki badań przyczynią się do określenia bardziej precyzyjnych zasad postępowania terapeutycznego z pacjentem chorym na czerniaka błony naczyniowej.

## Działalność naukowo-badawcza

Całkowity dorobek naukowy Habilitantki stanowią 63 publikacje pełnotekstowe. Wśród nich 18 zostało opublikowanych w czasopiśmie z Impact Factor, a 49 z listy MNiSW.

W 16 pracach dr n. med. Anna Markiewicz jest pierwszym autorem, a w 18 drugim. Analiza bibliometryczna publikacji ( dane na podstawie Bibliografii UJ CM oraz Web of Science Core Collection z dnia 20.06.2022 r.) przedstawia się następująco:

Suma Impact Factor: 54.732.

Suma pkt. MNiSW:1 688.000.

Liczba cytowań:123.

Liczba cytowań bez autocytowań: 116.

Współczynnik Hirscha: 6.

Habilitantka, należąc do zespołu prowadzącego projekt badawczy nt. „ Wieloczynnikowego modelu prognostycznego w czerniaku gałki ocznej oceniającego ryzyko wystąpienia przerzutów odległych i ryzyko zgonu nowotworowego w świetle badań nad nowymi markerami morfologicznymi i immunohistochemicznymi”, poza pracami ujętymi w głównym osiągnięciu naukowym , dwie następne poświęciła analizie znaczenia oceny cytomorfologii jąderek oraz ekspresji polio-like kinazy-1(PLK-1) w czerniaku błony naczyniowej.

Wynikiem badań było stwierdzenie obecności licznych jąderek i makrojąderek w komórkach czerniaka błony naczyniowej, których obecność może być wykryta podczas rutynowego badania histopatologicznego. Cecha ta związana jest ze złym rokowaniem. Zmniejszenie ekspresji PLK-1 w komórkach opisywanego nowotworu ma również niekorzystne znaczenie prognostyczne – wiąże się bowiem z krótszym okresem przeżycia chorego.

Nie do przecenienia pod względem klinicznym są osiągnięcia badawczo-terapeutyczne Habilitantki.

Od prawie 10 lat dr n. med. Anna Markiewicz jest Kierownikiem Pracowni Terapii Protonowej Kliniki Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Katedry Okulistyki

UJ CM , bierze czynny udział we wprowadzaniu tej terapii do powszechnego leczenia czerniaka błony naczyniowej poprzez współautorstwo w opracowaniu procedury i wykonywaniu jej.

Dr n. med. A. Markiewicz jest współautorem publikacji analizującej powikłania popromienne i sposoby ich leczenia. W pracy został przedstawiony problem " zespołu guza toksycznego" występujący po radioterapii zwłaszcza dużych czerniaków błony naczyniowej. Habilitantka należy do zespołu wykonującego endoresekcje guzów metodą pars plana witrektomii- zabiegi mogące zapobiec temu ciężkiemu powikłaniu.

Podstawową zachowawczą metodą terapii guzów wewnątrzgałkowych pozostaje brachyterapia. Krakowska Klinika Onkologii Okulistycznej jest największym w Polsce ośrodkiem onkologii okulistycznej. Ośrodek krakowski dysponując aplikatorami z dwoma rodzajami izotopów I-125 oraz Ru-106 leczy rocznie metodą brachyterapii ponad czterystu pacjentów. Dr n.med. Anna Markiewicz będąc od 2001 roku członkiem zespołu zajmującego się przeprowadzaniem brachyterapii ( naszywanie aplikatorów ocznych oraz usuwanie ich po terapii) wykonała lub brała udział jako asysta w około czterech tysiącach tego typu procedur.

Habilitantka jest głównym autorem lub współautorem szeregu publikacji przedstawiających wyniki leczenia brachyterapią w Klinice Krakowskiej. Na szczególną uwagę zasługuje jedyne do tej pory opublikowane opracowanie, prezentujące możliwość zastosowania brachyterapii Ru-106 lub I-125 jako alternatywy do powszechnie stosowanego zabiegu enukleacji gałki ocznej w leczeniu czerniaka okrężnego ( ring melanoma). Jest to rzadko występujący typ czerniaka błony naczyniowej toteż zgromadzony i przeanalizowany przez dr Annę Markiewicz i współautorów materiał kliniczny jest unikatowy, a uzyskane wyniki pozwalają rozważyć brachyterapię w ring melanoma jako możliwy sposób leczenia.

Habilitantka jest jednym z dwóch głównych autorów publikacji poświęconych analizie dziesięcioletnich wyników leczenia za pomocą brachyterapii I-125 ponad trzystu pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej w zależności od zastosowanej dawki promieniowania na szczyt guza oraz pod kątem przyczyn

wznowy miejscowej. Wyniki leczenia brachyterapią I-125 pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej w Klinice Okulistyki i Onkologii Okulistycznej w Krakowie są porównywalne do rezultatów prezentowanych przez wiodące ośrodki onkologii okulistycznej na świecie.

Dr n.med. Anna Markiewicz jest również współautorką algorytmu diagnostyki różnicowej czerniaka spojówki z pozostałymi zmianami melanocytarnymi . Algorytm ten obejmuje ocenę dziewięciu podejrzanych cech zmian spojówkowych i jest pierwszym opublikowanym do tej pory algorytmem stosowanym do różnicowania łagodnych i złośliwych zmian melanocytarnych spojówki.

Następna naukowa domena tematyczna została skoncentrowana na diagnostyce różnicowej guzów wewnątrzgałkowych metodą DRI-OCT czyli optycznej koherentnej tomografii obrazowania głębokiego zakresu. Krakowska Klinika Onkologii Okulistycznej była jednym z pierwszych ośrodków , który wykonując DRI-OCT u pacjentów z guzami wewnątrzgałkowymi rozwijał stosowanie tej metody w okulistycznej diagnostyce onkologicznej mając na uwadze jej ogromną zaletę jaką jest wysoka rozdzielczość pozwalająca na obrazowanie siatkówki , naczyniówki i twardówki z jakością porównywalną do przekrojów histologicznych. Wyniki badań zostały zawarte w publikacjach. Na szczególną uwagę zasługuje praca, w której opisano typowe cechy w DRI-OCT dla małego czerniaka i znamienia naczyniówki – zmian, które stanowią poważny problem diagnostyczny w onkologii okulistycznej ponieważ już małe czerniaki błony naczyniowej o grubości 1,5 mm mogą przerzutować.

Habilitantka stale podnosi swoje umiejętności zawodowe odbywając szkolenia i staże w ośrodkach krajowych i zagranicznych. Jest członkiem zespołów wieloośrodkowych programów badawczych.

### **Aktywność naukowa realizowana w uczelniach i instytucjach naukowych**

Dr n.med. Anna Markiewicz prowadzi współpracę naukową z wieloma ośrodkami akademickimi w Polsce i zagranicą.



Wieloletnia współpraca z naukowcami z Zakładu Patologii Klinicznej, Katedry Patologii Klinicznej i Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu zaowocowała wieloma cennymi publikacjami oraz nawiązaniem współpracy z Prof. Mai P. Hoang z Harvard Medical School. Badania prowadzone z naukowcami z Department of Pathology Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School w Bostonie mają duże szanse na dalszy rozwój, czego dowodem są wspólne publikacje, które ukażą się w European Journal of Cancer (IF 9.162).

Projekt badawczy dotyczący m.in. epigenetyki w czerniaku błony naczyniowej jest realizowany przez dr n.med. Annę Markiewicz z prof. Andrzejem T. Słomińskim z Department of Dermatology, Comprehensive Cancer Center, Cancer Chemoprevention Program, University of Alabama at Birmingham, oraz z dr hab. Anną Brożyną z Uniwersytetu Toruńskiego oraz dr hab. Martyną Elas ( UJ, WBBiB, Zakład Biofizyki i Biologii Nowotworów).

Plany dotyczące analizy ekspresji genów związanych z gorszym rokowaniem w czerniaku błony naczyniowej za pomocą QRT-PCR mają dużą szansę na realizację w Cell Biology Section, Immunity, Inflammation and Disease Laboratory, National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health USA we współpracy z profesorem Antonem M. Jettenem.

Od 2015 roku Habilitantka należy do Ocular Oncology Group. Jest to grupa założona przez europejskich okulistów i histopatologów, którzy specjalizują się w onkologii okulistycznej. Współpracuje w ramach Horizon 2020 w wielośrodkowym programie badawczym UM CURE( współpraca ze specjalistami z zakresu onkologii okulistycznej z University of Liverpool, Institut Curie, Leiden University Medical Center( prof. Martine J. Jager) i University of Trento ).

Aktywność naukowa dr n.med. Anny Markiewicz realizowana we współpracy z naukowcami z renomowanych ośrodków badawczych stanowi ogromny wkład do rozwoju diagnostyki i terapii czerniaka błony naczyniowej. Analiza tematyki projektów badawczych Habilitantki oraz uzyskanych już wyników pozwala mieć uzasadnioną nadzieję na istotny postęp w onkologii czerniaka błony naczyniowej jaki niewątpliwie dokona się dzięki jej osiągnięciom naukowym.

## Działalność dydaktyczno – organizacyjna

Dr n. med. Anna Markiewicz od ponad dwudziestu lat zajmuje się prowadzeniem ćwiczeń, seminariów i wykładów dla studentów Wydziału Lekarskiego i Wydziału Lekarsko- Dentystycznego UJ CM ciesząc się najwyższą możliwą oceną studentów, uzyskując również ocenę wyróżniającą za prowadzenie zajęć podczas hospitacji.

Habilitantka prowadzi także zajęcia ze studentami Wydziału Lekarskiego i Stomatologii Szkoły dla Obcokrajowców UJ CM, jest koordynatorem zajęć dydaktycznych z zakresu chorób narządu wzroku, prowadzi i przygotowuje wykłady, seminaria i ćwiczenia dla studentów kierunku Dietetyka WL UJ CM oraz Ratownictwo Medyczne WnoZ UJ.

Dr n. med. Anna Markiewicz jest kierownikiem specjalizacji 10 lekarzy specjalizujących się z zakresu okulistyki (zakończonych szkoleń i w trakcie specjalizacji). Przygotowuje i prowadzi wykłady w trakcie obowiązkowych kursów dla specjalizujących się w zakresie onkologii okulistycznej organizowanych przez CMPK UJ CM – ocena prowadzonych zajęć na poziomie 5.0.

Dr n. med. Anna Markiewicz brała udział w organizacji wielu naukowych sympozjów i konferencji – krajowych i zagranicznych.

Dr n. med. Anna Markiewicz jest członkiem Polskiego Towarzystwa Okulistycznego (PTO), pełniąc obecnie funkcję zastępcy przewodniczącego Małopolskiego Oddziału PTO.

Jest również członkiem europejskich (EVRS, ESCRS, EVER) i amerykańskich towarzystw naukowych (AAO).

Habilitantka jest recenzentem w Journal of Contemporary Brachytherapy (IF 1.656) i Cancers (IF 6.639).

## Wniosek końcowy

Na podstawie analizy cyklu prac i przedstawionego omówienia osiągnięcia badawczego pt. **„Rola nowych czynników diagnostycznych i prognostycznych w czerniaku błony naczyniowej”** oraz po zapoznaniu się z osiągnięciami naukowymi, dydaktycznymi i organizacyjnymi stwierdzam, że cały dorobek dr n. med. Anny Markiewicz spełnia kryteria merytoryczne i formalne wymogi stawiane podczas ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

Uważam, że dotychczasowe prace naukowe i kliniczne- wnikliwe i nowatorskie utwierdzą Habilitantkę w przekonaniu o właściwym wyborze zawodowym trudnej i wymagającej dziedziny jaką jest onkologia okulistyczna, będąc jednocześnie impulsem do realizacji nowych koncepcji badawczych.

Wnioski płynące z przedstawionych prac dr.n.med. Anny Markiewicz mają ogromne znaczenie kliniczne i stanowią bardzo istotny wkład Autorki w rozwój onkologii okulistycznej.

Mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o przyjęcie rozprawy habilitacyjnej dr n.med. Anny Markiewicz oraz dopuszczenie jej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Dr hab.n.med. Renata Zalewska

Białystok, 10.02.2023 r.

