



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

KLINIKA HEMATOLOGII I TRANSPLANTOLOGII

ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin tel:91-425-33-47 fax:91-425-33-57

kierownik Prof. dr hab. med. Barbara Zdziarska

Szczecin, dnia 11.02. 2024r.

**Recenzja rozprawy
na stopień doktora nauk medycznych
lek. Jakuba Dębskiego
p.t. ” Zmiany immunologiczne u chorych na nowotwory krwi i układu
chłonnego pod wpływem leczenia cytostatycznego**

Zgodnie z uchwałą Kapituły Kolegium Nauk Medycznych UM w Poznaniu o powołaniu mnie na recenzenta w/w rozprawy ma zaszczyt przedstawić swoją opinię.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska dotyczy ważnego problemu klinicznego jakim jest poznanie czynników mających wpływ na przebieg i wyniki leczenia pacjentów z ostrymi białaczkami. Mimo postępu wiedzy i poznania mechanizmów działania leków przeciwbiałaczkowych a także wyodrębnienia czynników rokowniczych pozostaje nadal wiele pytań na które oczekujemy odpowiedzi. To pytania nie tylko o tajemnicę sposobów niszczenia komórek białaczkowych przez leki ale także udział układu immunologicznego chorego. Pacjenci z ostrymi białaczkami z punktu widzenia fenotypu i genetyki są klasyfikowani do dość ściśle zdefiniowanych grup. Natomiast przebieg leczenia u chorego i jego wynik nie zawsze jest oczywisty i przewidywalny. Coraz częściej leczenie ostrych białaczek jest indywidualizowane. Wprowadzane są nowe leki, jednak nadal w chemioterapii indukującej remisję swoje miejsce mają antybiotyki antracyklinowe. Dlatego cenne zarówno poznawczo jak i klinicznie jest badanie przez Autora udziału wczesnych mechanizmów immunologicznych u pacjentów z ostrymi białaczkami poddanych chemioterapii z udziałem antracyklin.

Analiza merytoryczna rozprawy

Głównym celem przedstawionej mi do recenzji pracy było zbadanie udziału wczesnych mechanizmów immunologicznych w osiągnięciu remisji choroby u pacjentów z ostrą białaczką szpikową i limfoblastyczną, u których zastosowano chemioterapię indukującą remisję, opartą na antybiotykach antracyklinowych. Do badań Autor wybrał białka: kalretikulinę, CD47, HMGB1 oraz limfocyty regulatorowe. Jako cele szczegółowe postawiono zbadanie:

1. Czy podanie chemioterapii indukującej remisję wpłynęło na ekspresję kalretikuliny, CD47, stężenie osoczowego HMGB1 oraz odsetek limfocytów T regulatorowych po 12-24 godzinach ?
2. Czy istnieją różnice w ekspresji kalretikuliny, CD47, stężeniu HMGB1 oraz odsetku limfocytów regulatorowych w zależności od osiągnięcia remisji całkowitej w oznaczeniach wykonanych przed i po zastosowaniu chemioterapii ?
3. Czy występują różnice w ekspresji kalretikuliny, CD47, stężeniu HMGB1 oraz odsetku limfocytów T regulatorowych w zależności od ryzyka cytogenetycznego ?
4. Czy istnieje zależność pomiędzy ekspresją kalretikuliny, CD47, stężeniem HMGB1 oraz odsetkiem limfocytów T regulatorowych, w jakiej fazie choroby i leczenia ?
5. Czy odnotowano związek pomiędzy czasem całkowitego przeżycia pacjentów a badanymi parametrami
6. Czy otrzymane wyniki dowiodły istnienia mechanizmu immunogennej śmierci komórki białaczkowej po wdrożeniu chemioterapii opartej na antracyklinach w badanej populacji pacjentów ?

Rozprawa przedstawiona do recenzji jest monografią, podzieloną tradycyjnie na wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metodykę, wyniki badań, dyskusję, wnioski, streszczenie i piśmiennictwo. Rozprawa jest wzbogacona tabelami oraz rycinami umieszczonymi w tekście. Przytoczono 245 pozycje piśmiennictwa.

We wstępie rozprawy Autor przedstawił wyczerpująco problemy związane obrazem klinicznym, rokowaniem i sposobami leczenia ostrych białaczek, wpływem chemioterapii na układ immunologiczny chorego oraz mechanizmami niszczenia komórek białaczkowych w trakcie terapii antynowotworowej.

Rozdział pacjenci, materiały i metody jest opracowany wystarczająco szczegółowo. Analizą objęto 52 pacjentów, w tym 47 z ostrą białaczką szpikową i 5 z ostrą białaczką limfoblastyczną. Chorzy byli leczeni w latach 2013-2017, w Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku we Wrocławiu. U pacjentów zbadano odsetek ekspresji błonowej kalretikuliny i białka CD47 oraz limfocytów regulatorowych CD4+CD25^{high} przy pomocy cytofluometrii przepływowej, oceniono białko HMGB1 w teście immunoenzymatycznym. Oznaczenia wykonano przed wdrożeniem chemioterapii indukującej oraz 12-24 godzin po jej podaniu. Wyniki zostały poddane analizie statycznej. Badanie wykonano za zgodą Lokalnej Komisji Bioetycznej. Nr KB -219/2009

Wyniki badań zostały opisane rzeczowo i są dobrze udokumentowane. Godnym podkreślenia jest fakt, że tabele (w liczbie 99) i ryciny (w liczbie 26) są umieszczone wewnątrz rozdziału i dobrze korespondują z treścią. Populacja badana jest wystarczająco liczna do przeprowadzenia wiarygodnej analizy statystycznej, która została prawidłowo zaplanowana i wykonana.

Dyskusja zawiera obiektywny stosunek Autora do uzyskanych w badaniu wyników oraz ich konfrontację z wynikami innych. W dyskusji doktorant wykazał się dojrzałością kojarzenia faktów i dystansem w pracy badacza. Możliwe to było dzięki dobrej znajomości danych literaturowych umieszczonych w 245 pozycjach piśmiennictwa, pochodzących z ostatnich lat.

Redakcja pracy: przedłożona mi do oceny rozprawa na stopień doktora nauk medycznych przygotowana jest zgodnie z zasadami wymaganymi do tego rodzaju prac. Jest starannie zredagowana, napisaną poprawną polszczyzną. Pomocny w czytaniu jest zamieszczony na początku rozprawy wykaz skrótów. W przygotowaniu pracy do publikacji proponuje uzupełnienie brakujących w tekście powołań rycin i tabel.

Wnioski, w liczbie 6 są sformułowane prawidłowo, zawierają najważniejsze osiągnięcia rozprawy i odpowiadają założeniom przedstawionym w celu pracy:

1. Podanie opartej na antracyklinach chemioterapii indukującej remisję w ostrej białaczce szpikowej może powodować zmniejszenie stężenia HMGB1 w osoczu, nie wpływa na ekspresję kalretikuliny, białka CD47 i odsetek limfocytów T regulatorowych.
2. Ekspresja kalretikuliny, CD47, stężenie HMGB1 i odsetek limfocytów T regulatorowych u chorych na AML nie różnią się w zależności od osiągnięcia lub braku remisji całkowitej choroby.
3. Zwiększoną ekspresję kalretikuliny i większe stężenie HMGB1 przed podaniem chemioterapii, wykazują chorzy na AML z podwyższonym, w porównaniu do standardowego, ryzykiem cytogenetycznym
4. Ekspresja kalretikuliny koreluje pozytywnie z białkiem CD47 u chorych na AML, niezależnie od fazy leczenia.
5. Ekspresja kalretikuliny $\geq 20\%$ po podaniu antracyklin determinuje krótszy czas całkowite przeżycia chorych na AML. Jako niezależny czynnik niekorzystnego rokowania może być atrakcyjnym celem dla immunoterapii CAR-T. W grupie pacjentów z AML, którzy osiągnęli remisję całkowitą, całkowity czas przeżycia wykazuje związek z odsetkiem limfocytów T regulatorowych
6. Nie zaobserwowano odchyłań badanych parametrów reprezentatywnych dla mechanizmu immunogennej śmierci komórki wywołanej działaniem antracyklin na blasty białaczkowe.

Wniosek recenzenta:

Po zapoznaniu się z rozprawą lek. Jakuba Dębskiego pt: „ Zmiany immunologiczne u chorych na nowotwory krwi i układu chłonnego pod wpływem leczenia cytostatycznego” uważam, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2023 r., poz 742 z późn. zm.)".

W związku z powyższym mam zaszczyt przedstawić Kapitulę Kolegium Nauk Medycznych UM w Poznaniu moją pozytywną recenzję z wnioskiem o dopuszczenie lek. Jakuba Dębskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Barbara Zdziarska

