Świętokrzyskie Centrum Onkologii

Recenzja rozprawy doktorskiej lekarz Anny Płotki *„Kompleksowa ocena zaburzeń genetycznych u dorosłych chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną B-komórkową."*

Lekarz Anna Płotka w swojej dysertacji przedstawia wyniki kompleksowej analizy ostrej białaczki limfoblastycznej B-komórkowej (B-ALL), której rezultaty leczenia wciąż nie są zadowalające, zwłaszcza wśród dorosłych chorych. Wybór więc celu badawczego jest wielce zasadny. Przedstawiona do oceny praca doktorska liczy 102 strony, a tekst dodatkowo uzupełniają: wykaz skrótów, 2 ryciny, 1 tabela. Dysertacje otwierają wykaz publikacji stanowiących podstawę niniejszej pracy doktorskiej oraz rozdział o imponującej aktywności naukowej doktorantki w zakresie publikacji oraz prezentacji wyników.

Wstęp wprowadza czytelnika w biologię B-ALL oraz historyczne i obecne możliwości diagnostyki i leczenia tej białaczki. Rozdział ten kończy podsumowanie ciągle gorszych wyników leczenia B-ALL (5-letnie przeżycia) u dorosłych w porównaniu z dziećmi (20–40% vs. 85% dzieci), co wynika z różnic w biologii tej choroby oraz mniejszej tolerancji na wielolekową chemioterapię. Następnie doktorantka krótko omawia epidemiologię, wskazując, że 52% przypadków B-ALL diagnozowanych jest poniżej 17. roku życia. Dalej doktorantka wprowadza czytelnika w mechanizmy genetyczne (CNV i SNP) inicjujące rozwój B-ALL, które stanowią podstawę aktualnej klasyfikacji WHO. Następnie omawia czynniki ryzyka rozwoju tej białaczki (ekspozycję na promieniowanie jonizujące, chemioterapię, radioterapię lub toksyny, zakażenie wirusem EBV lub HIV). W kolejnym rozdziale doktorantka zwięźle przedstawia podtypy B-ALL i leżące u ich podstaw zmiany genetyczne (fuzje i mutacje). Następnie doktorantka omawia przebieg naturalny B-ALL, diagnostykę (cytologiczną, immunofenotypową, molekularną: FISH, qPCR i NGS) i kryteria rozpoznania oraz czynniki rokownicze. W kolejnym podrozdziale doktorantka omawia etapy leczenia oraz stosowane terapie w zależności od wyników diagnostyki immunofenotypowej i genetycznej oraz czy mamy do czynienia z chorobą pierwotną, czy nawrotem. W przypadku leczenia choroby nawrotowej doktorantka omawia terapię z wykorzystaniem bispecyficznych przeciwciał oraz CART19. Dojrzale zauważa, że terapie te są skuteczne przy mniejszej masie choroby, a więc powinny być stosowane na wczesnych etapach leczenia.

W rozdziale drugim doktorantka przedstawia założenia rozprawy doktorskiej, której podstawę tworzą trzy publikacje, w których doktorantka jest pierwszym autorem (IF 5.6 i MEiN 250 ptk.) i które miały za zadanie spełnienie 3 celów szczegółowych. Główny cel określono jako kompleksową ocenę zaburzeń genetycznych u dorosłych chorych na B-ALL. Cele szczegółowe obejmowały: opracowanie algorytmu rozpoznawania BCR::ABL1-like ALL z użyciem metod cytogenetycznych i molekularnych; analizę

Świętokrzyskie Centrum Onkologii
Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej w Kielcach
ul. Stefana Artwińskiego 3, 25-734 Kielce

www.onkol.kielce.pl
scoinfo@onkol.kielce.pl
Call center +48 413674208

Regon: 001263233
NIP: 9591294907
KRS: 0000004015

Dyrektor Tel. +48 413674501 | Fax +48 413456882
Z-ca Dyrektora ds. Klinicznych Tel. +48 413674819 | Fax +48 413674817
Z-ca Dyrektora ds. Pielęgniarstwa Tel. +48 413674204 | Fax +48 41 3674099
Z-ca Dyrektora ds. Finansowo-Administracyjnych Tel. +48 413674507 | Fax +48 413674096
Z-ca Dyrektora ds. Prawno-Inwestycyjnych Tel. +48 413674506 | Fax +48 41 3455651

materiału chorych leczonych w latach 2008–2023; oraz analizę WGS w odniesieniu do podtypów immunologicznych, cytogenetyczno-molekularnych i odpowiedzi na leczenie. Cele są wzajemnie powiązane i odpowiadają problemowi badawczemu.

W rozdziale trzecim doktorantka omawia publikacje będące podstawą jej dysertacji. Praca przeglądowa stanowi dobre wprowadzenie do biologii BCR::ABL1-like ALL. Doktorantka prawidłowo przedstawia heterogenność zaburzeń szlaków JAK–STAT, ABL-class i RAS, metody diagnostyczne oraz racjonalne przesłanki terapii celowanych. Jej ograniczeniem jest niesystematyczny charakter, jednak w cyklu pełni właściwą funkcję koncepcyjną. Największą wartość aplikacyjną ma druga publikacja, w której oceniono 102 dorosłych chorych leczonych w latach 2008–2022; do analizy włączono 71 osób z dostępnym materiałem i danymi klinicznymi. Po wyodrębnieniu 32 przypadków z nawracającymi zaburzeniami cytogenetycznymi 39 chorych poddano etapowemu badaniu z użyciem cytometrii przepływowej, kariotypowania, FISH, HRMA i sekwencjonowania Sangera. Cechy BCR::ABL1-like stwierdzono u 6 chorych, czyli u 15,4% grupy poddanej badaniu przesiewowemu i 8,5% całej analizowanej kohorty. Cztery przypadki miały rearanżację *CRLF2*, a u jednego wykazano wariant *JAK2* p.Arg683Ser. Szczególnie interesująca jest dokumentacja późnego, trzynastoletniego nawrotu z rearanżacją *CRLF2* nieobecną w materiale z pierwotnego rozpoznania, wskazująca na ewolucję klonalną lub powstanie nowego klonu białaczkowego. Trzecia publikacja jest najbardziej zaawansowaną częścią rozprawy. Analizą WGS objęto 64 dorosłych chorych leczonych w latach 2008–2023; uzyskano 65 próbek, w tym 30 próbek od 29 chorych z opornością lub nawrotem (R/R). Biblioteki sekwencjonowano na platformie Illumina NovaSeq 6000 przy średnim pokryciu około 35×. Wyniki zestawiono z immunofenotypem, podtypem molekularnym i odpowiedzią na leczenie. Po filtracji zidentyfikowano 2237 wariantów w 1267 genach, w tym 248 wariantów sklasyfikowanych jako patogenne i 126 jako prawdopodobnie patogenne. W grupie R/R 517 genów zawierało warianty niewystępujące w grupie remisji, a chorzy R/R wykazywali większe obciążenie mutacyjne. Analizy wzbogacenia wskazały na szlaki naprawy DNA, m.in. *BRCA2* i *FANCM*, sygnalizację kinazową, m.in. *JAK2* i *NF1*, oraz remodelowanie chromatyny, m.in. *CREBBP* i *BARD1*. Termin GO „regulation of phosphorylation" różnicował grupę R/R i chorych odpowiadających na leczenie. Są to wyniki oryginalne i hipotezotwórcze, podkreślające potrzebę dalszej walidacji genów regulujących fosforylację jako potencjalnych mediatorów oporności. W przypadku wszystkich trzech prac doktorantka odnosi się krytycznie do braków co świadczy to o dojrzałości naukowej doktorantki.

Świętokrzyskie Centrum Onkologii
Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej w Kielcach
ul. Stefana Artwińskiego 3, 25-734 Kielce

www.onkol.kielce.pl
scoinfo@onkol.kielce.pl
Call center +48 413674208

Regon: 001263233
NIP: 9591294907
KRS: 0000004015

Dyrektor Tel. +48 413674501 | Fax +48 413456882
Z-ca Dyrektora ds. Klinicznych Tel. +48 413674819 | Fax +48 413674817
Z-ca Dyrektora ds. Pielęgniarstwa Tel. +48 413674204 | Fax +48 41 3674099
Z-ca Dyrektora ds. Finansowo-Administracyjnych Tel. +48 413674507 | Fax +48 413674096
Z-ca Dyrektora ds. Prawno-Inwestycyjnych Tel. +48 413674506 | Fax +48 41 3455651

Oba badania są jednoośrodkowe i w znacznej części retrospektywne, a leczenie prowadzone przez kilkanaście lat według zmieniających się protokołów. W pracy diagnostycznej wykluczono 31 ze 102 chorych z powodu braku materiału lub danych, co stwarza ryzyko błędu selekcji i wpływa na oszacowanie częstości BCR::ABL1-like ALL. Algorytm oparty głównie na FISH i ekspresji TSLPR identyfikuje część znanych zmian, ale nie potwierdza sygnatury ekspresyjnej BCR::ABL1-like i może pomijać rzadkie fuzje, warianty sekwencyjne oraz zaburzenia liczby kopii. Należy go traktować jako strategię przesiewową, a nie pełny odpowiednik ukierunkowanego RNA-seq, WTS lub zwalidowanego klasyfikatora ekspresyjnego. Analiza WGS była badaniem komórek nowotworowych bez dopasowanego materiału niehematopoetycznego. Nie można zatem pewnie odróżnić wariantów somatycznych od germinalnych, co ma szczególne znaczenie dla genów *BRCA2, FANCM* i innych genów naprawy DNA. Ponadto pokrycie około 35× ogranicza wykrywanie małych subklonów, a przedstawiona analiza nie wykorzystuje pełnego potencjału WGS do równoczesnej oceny zmian strukturalnych, CNV, copy-neutral LOH i fuzji.

W rozdziale czwartym doktorantka przedstawia wnioski formułowane na podstawie opublikowanych swoich wyników. Wskazuje, na użyteczność zaproponowanego algorytmu diagnostycznego w przypadku braku dostępności do zaawansowanych metod. Wnioskuje również na podstawie wyników uzyskanych z wykorzystaniem WGS o heterogenności B-ALL oraz identyfikacji mutacji w genach związanych z sygnalizacją kinaz i remodelowaniem chromatyny co może być podstawą oporności lub nawrotu choroby w tej grupie chorych.

Prace zamyka rozdział bibliografii liczący 44 publikacje, streszczenie w języku polskim i angielskim, trzy publikacje stanowiące podstawę dysertacji oraz oświadczenia współautorów i orzeczenie komisji bioetycznej.

Resumując, należy podkreślić, że przedstawiona rozprawa dotyczyła krytycznej oceny piśmiennictwa B-ALL oraz stworzenia skutecznego algorytmu diagnostycznego identyfikującego przypadki *BCR::ABL1-like* o niekorzystnym rokowaniu. Dodatkowo doktorantka przeprowadziła kompleksową ocenę zaburzeń genetycznych z wykorzystaniem WGS, co pozwoliło na identyfikację wariantów w genach związanych z naprawą DNA, sygnalizacją kinaz oraz remodelowaniem chromatyny w podgrupie chorych, którzy doświadczyli oporności na leczenie. Praca stanowi więc logicznie zaproponowany ciąg prac badawczych. Interpretacja wyników jest dojrzała. Autorka uczciwie przyznaje, że nie udało się wyodrębnić specyficznego profilu mutacji dla podtypu *BCR::ABL1*-like. Dodatkowo należy podkreślić, że całość wykonanych badań

Świętokrzyskie Centrum Onkologii
Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej w Kielcach
ul. Stefana Artwińskiego 3, 25-734 Kielce

www.onkol.kielce.pl
scoinfo@onkol.kielce.pl
Call center +48 413674208

Regon: 001263233
NIP: 9591294907
KRS: 0000004015

Dyrektor Tel. +48 413674501 | Fax +48 413456882
Z-ca Dyrektora ds. Klinicznych Tel. +48 413674819 | Fax +48 413674817
Z-ca Dyrektora ds. Pielęgniarstwa Tel. +48 413674204 | Fax +48 41 3674099
Z-ca Dyrektora ds. Finansowo-Administracyjnych Tel. +48 413674507 | Fax +48 413674096
Z-ca Dyrektora ds. Prawno-Inwestycyjnych Tel. +48 413674506 | Fax +48 41 3455651

Świętokrzyskie Centrum Onkologii

została profesjonalnie przeprowadzona. Świadczy to o dobrej organizacji pracy oraz bardzo dobrej znajomości tematu B-ALL przez doktorantkę. Naturalną kontynuacją prac badawczych przez doktorantkę byłaby ocena zmian epigenetycznych w B-ALL.

W mojej ocenie rozprawa doktorska lekarz Anny Płotki spełnia wymogi stawiane tego typu rozprawom i zwracam się do Rady Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu o dopuszczenie lekarz Anny Płotki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2022 r., poz. 574).

2026.07.22

Świętokrzyskie Centrum Onkologii
Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej w Kielcach
ul. Stefana Artwińskiego 3, 25-734 Kielce

www.onkol.kielce.pl
scoinfo@onkol.kielce.pl
Call center +48 413674208

Regon: 001263233
NIP: 9591294907
KRS: 0000004015

Dyrektor Tel. +48 413674501 | Fax +48 413456882
Z-ca Dyrektora ds. Klinicznych Tel. +48 413674819 | Fax +48 413674817
Z-ca Dyrektora ds. Pielęgniarstwa Tel. +48 413674204 | Fax +48 41 3674099
Z-ca Dyrektora ds. Finansowo-Administracyjnych Tel. +48 413674507 | Fax +48 413674096
Z-ca Dyrektora ds. Prawno-Inwestycyjnych Tel. +48 413674506 | Fax +48 41 3455651