

Recenzja pracy doktorskiej mgr Zuzanny Kanduły na temat: "Wybrane warianty genetyczne a manifestacja laboratoryjna zdefiniowanych molekularnie nowotworów mieloproliferacyjnych Filadelfia ujemnych".

Przedstawiona do recenzji praca doktorska dotyczy interesującego problemu występowania różnorodnych wariantów genetycznych w przebiegu nowotworów mieloproliferacyjnych i ich wpływu na fenotyp tych chorób i charakterystyczne cechy występujące w badaniach laboratoryjnych.

Dysertacja ma typowy układ. Zawiera wykaz skrótów i symboli stosowanych w pracy, wykaz publikacji stanowiących podstawę postępowania w sprawie o nadanie stopnia naukowego doktora, opis aktywności naukowej doktorantki, spis treści, wstęp, założenia rozprawy, omówienie prac, wnioski, piśmiennictwo, streszczenie w języku polskim i angielskim, artykuły stanowiące cykl publikacji, oświadczenia współautorów oraz orzeczenia komisji bioetycznej.

Prace będące podstawą postępowania w sprawie o nadanie stopnia doktora nauk obejmują pięć pełnotekstowych publikacji w impaktowanych czasopismach o współczynniku wpływu od 0.357 do 3.6, w których doktorantka jest pierwszym autorem w czterech z nich, a w jednej jest drugim autorem. Świadczy to o jej najbardziej znaczącym udziale w powstawaniu tych prac.

Aktywność naukowa doktorantki obejmuje udział w projekcie prowadzonym przez Polską Grupę Pediatryczną ds. Leczenia Chłoniaków i Białaczek Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej poświęconemu charakterystyce klinicznej i molekularnej nowotworów mieloproliferacyjnych Filadelfia ujemnych u dzieci – zgodnym tematycznie z tematem dysertacji doktorskiej. Doktorantka jest autorką lub współautorką 26 prac o łącznej punktacji Impact Factor = 48.898 i MEiN = 1380

We wstępie doktorantka obszernie omawia charakterystykę etiopatogenetyczną – molekularną przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych opisując podłoże molekularne powstawania MPN Ph(-), zwiększonego ryzyka zakrzepowego i krwotocznego, nasilania się włóknienia szpiku i transformacji blastycznej. Doktorantka szczegółowo i w sposób świadczący o bardzo dobrej orientacji w tym zagadnieniu omawia procesy regulacyjne hemopoezy, powstawania nowotworów mieloproliferacyjnych i udział w tych mechanizmach poszczególnych genów.

Celem pracy było określenie częstości i rodzaju występowania patogennych wariantów sekwencji w genach *JAK2*, *CALR*, *MPL*, *SRSF2*, *ASXL1* i *U2AF1*, określenie związku pomiędzy typem wariantu wiodącym i niewiodącym a zmianami w morfologii krwi choroby, określenie częstości występowania i związku wariantów pojedynczego nukleotydu rs2736100 *TERT*, rs9420907 *OBCF1*, oraz haplotypu 46/1 w zdefiniowanych molekularnie podtypach MPN Ph(-) oraz ocena w tych podtypach zmian liczby kopii oraz ekspresji genów zlokalizowanych w obrębie chromosomu 9p24 (*JAK2*, *PDL1* i *PDL2*).

Pierwsza z przedstawionych prac ma charakter poglądowy i poświęcona jest charakterystyce genu kalretikuliny, a także zaburzeniom funkcji białka CALR. W pracy poruszono m.in. ciekawy wątek immunogenności nieprawidłowych wariantów białka CALR i kwestię możliwej immunoterapii nowotworów obciążonych ekspresją nieprawidłowego genu i białka CALR.

T. Joch

W drugiej pracy będącej opisem przypadku osoby chorującej na czerwienicę prawdziwą u której doszło do szybkiej ewolucji choroby do samoistnego włóknienia przedstawiono szczegółową analizę molekularną, w toku której wykryto i oceniono ładunek alleliczny zmian genów *JAK2*, *SRSF2* i *ASXL1*. Ostatnie dwa to geny wysokiego ryzyka molekularnego, których występowanie wiąże się ze znaczną redukcją przeżycia całkowitego u chorych na samoistne włóknienie szpiku (MF). Wykryty wariant genu *ASXL1* nie był wcześniej raportowany i obserwowany w przebiegu MPN Ph (-). Wykrycie zmiany w genie *SRSF2* jeszcze w przebiegu czerwienicy prawdziwej (PV) szybko transformującej do samoistnego włóknienia szpiku może świadczyć o jej udziale w tym zjawisku i rozważeniu włączenia tego parametru do oceny wskaźników rokowniczych w PV.

W trzeciej publikacji dokonano analizy 151 chorych na czerwienicę prawdziwą wobec 57 osobowej grupy kontrolnej obejmującej osoby zdrowe pod kątem częstości występowania powikłań zakrzepowych (TE). Ryzyko to nie zależało od SNV genów *JAK2*, *TERT*, *OBCF1*, VAF dla *JAK2*, ani obecności niewiodących wariantów. Zaobserwowano natomiast trend na granicy istotności statystycznej dla korelacji między występowaniem TE a obecnością genotypu CC miR-146a rs2431697. Dodatkowo jako czynniki wpływające na ewolucję w MF zidentyfikowano wysoki VAF genu *JAK2* (który także w przeprowadzonej analizie zwiększał ryzyko zgonu), SNV *JAK2* rs12343867 genotyp CC oraz obecność współistniejącego wariantu typu niewiodącego. Progresja do fazy przełomu blastycznego wystąpiła u trzech chorych, zjawisko to powiązано z obecnością wariantów typu niewiodącego.

W kolejnej pracy przeprowadzono badania, których celem była ocena ekspresji mRNA *PD-L1* i *JAK2* u 162 chorych na nadpłytkowość samoistną (ET) scharakteryzowaną molekularnie oraz skorelowanie tych wyników z tendencją do ewolucji do fazy zwłóknieniowej. W powyższych badaniach wykazano spadek poziomu mRNA *JAK2* i *PD-L1* w trakcie progresji do fazy zwłóknieniowej, który był powiązany z nasileniem włóknienia szpiku. Obserwowane zmiany odniesiono do możliwego spadku potencjału proliferacyjnego klonu komórek *JAK2* – dodatnich.

W ostatniej z przedstawionych prac badano wpływ określonych parametrów morfologii krwi, liczby blastów we krwi obwodowej i szpiku oraz obecności mutacji wysokiego ryzyka molekularnego (HMR) takich jak *ASXL1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *IDH1*, *IDH2* w chwili rozpoznania samoistnego włóknienia szpiku na przebieg tej choroby u 82 pacjentów z potwierdzonym rozpoznaniem pierwotnej mielofibrozy (PMF). Warianty genów *SRSF2*, *U2AF1* i *ASXL1* wykryto odpowiednio u 9, 11 i 15 chorych, spośród których zmarło 8 z 9 z wykrytym wariantem *SRSF2*, 4 z 11 z wariantem *U2AF1* oraz 13 z 15 z wariantem *ASXL1*. Ryzyko progresji choroby nie zależało od typu mutacji wiodącej lecz było skorelowane z obecnością wariantów HMR. Analiza wpływu poszczególnych wariantów HMR potwierdziła negatywny wpływ *U2AF1*, *ASXL1*, *JAK2* oraz *SRSF2*. Stwierdzono, że ryzyko zgonu było większe u chorych z obecnymi wariantami HMR, u chorych z liczbą PLT krwi pomiędzy 50-100 G/L lub <50 G/L, a ryzyko progresji rosło u chorych wraz ze zwiększeniem liczby large unstained cells (LUC) w morfologii wykonanej w chwili diagnozy, co było dotąd zjawiskiem nieopisanym.

Podsumowanie:

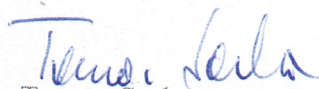
Po zapoznaniu się z wynikami opublikowanych prac należy stwierdzić, że przeprowadzone badania umożliwiły realizację wszystkich zadeklarowanych celów rozprawy doktorskiej. Ich wyniki zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach posiadających współczynnik wpływu (Impact Factor) od 0.357 do 3.6., a wyciągnięte wnioski są uprawnione i sformułowane poprawnie. W całości

T. J. J. J.

wyniki uzyskane w toku przeprowadzonych badań wpisują się w nurt doniesień wskazujących na potrzebę kompleksowej, dogłębnej i szczegółowej charakterystyki molekularnej, cytogenetycznej i laboratoryjnej u wszystkich chorych na nowotwory mieloproliferacyjne w celu precyzyjnego określenia rokowania i optymalnego doboru terapii.

Oceniana dysertacja spełnia wymogi stawiane przed tego typu opracowaniami i pozwala na przedłożenie mojej pozytywnej oceny i rekomendacji nadania biegu dalszym etapom przewodu doktorskiego mgr Zuzanny Kandudy. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie przedstawionej do oceny dysertacji.

Z poważaniem



Prof. dr hab. med. Tomasz Sacha
lekarz
Specjalista chorób wewnętrznych
Specjalista hematolog
Specjalista immunologii klinicznej
2624828 980610876
Prof. dr hab. med. Tomasz Sacha