Szczecin, 04.08.2023r.

ZAKŁAD GENETYKI I PATOMORFOLOGII

POMORSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

72-252 Szczecin tel. tel. +48 91 441 72 50

ul. Unii Lubelskiej 1

Recenzja pracy doktorskiej mgr Joanny Dejewskiej pt. „Genomiczny profil oporności na antracykliny w dziecięcych ostrych białaczkach"

Rozprawa liczy 151 stron, w rozdziale piśmiennictwo zawiera 304 pozycje, ponadto 17 tabel i 22 ryciny. Praca poprzedzona spisem treści, zawiera streszczenie. Układ rozdziałów oraz opracowanie graficzne są przejrzyste i starannie zredagowane, zgodnie z ogólnie przyjętymi wymogami prac doktorskich. Cytowane piśmiennictwo jest aktualne i adekwatne do treści. Większość cytowanych referencji opublikowana została w ciągu ostatnich pięciu lat.

Ostre białaczki (ALL, AML) to najczęstsze nowotwory złośliwe u dzieci. Choć obecnie wyleczalność dzieci chorych na te nowotwory jest wysoka, niestety powikłana występujące w trakcie leczenia oraz nawroty choroby wywołane powstaniem komórek opornych na terapię przyczyniają się do niepowodzeń leczenia. Co ciekawe, już zastosowanie samych sterydów doprowadza do eliminacji większości balastów białaczkowych oraz często prowadzi do osiągnięcia prawidłowego odsetka blastów w szpiku (co stanowi bardzo istotny czynnik rokowniczy). Jednakże po leczeniu sterydami konieczne jest wdrożenie wielolekowej chemioterapii, która ma na celu eliminację wszystkich komórek nowotworowych i zapobieżenie wznowie choroby. Od lat opracowuje się optymalne schematy terapii skojarzonej i leki chemioterapeutyczne, które umożliwią osiągniecie wysokiego odsetka wyleczenia ALL i AML. Pomimo zastosowania leczenia wielolekowego u części pacjentów obserwuje się wznowę choroby. Ponieważ u podłoża białaczek znajdują się mutacje genetyczne, dlatego w rozpoznaniu schorzenia, ocenie rokowania oraz w doborze optymalnego leczenia bardzo istotną rolę odgrywają badania genetyczne. Występowanie szczególnych mutacji genetycznych oraz aberracji chromosomalnych wiąże się z podatnością lub opornością na specyficzne chemioterapeutyki. Identyfikacja zmian genetycznych związanych z odpowiedzią na leczenie jest celem prac wiodących zespołów naukowo-

badawczych na świecie. Zadanie, jakiego podjęła się Doktorantka, ukazuje się zatem jako ważne i aktualne.

We wstępie liczącym 30 stron mgr Joanna Dejewska przedstawiła charakterystykę białaczek wieku rozwojowego. Przedstawiła również znaczenie kliniczne zmian genetycznych wykrywanych w komórkach białaczkowych. Opisała metody terapii dzieci z białaczką ze szczególnym uwzględnieniem leków antracyklinowych. Wytłumaczyła powstawanie zjawiska lekooporności. Odniosła się również do aktualnych metod wykorzystywanych w wykrywaniu zaburzeń genetycznych. Wstęp napisany jest bardzo szczegółowo, wprowadzając w istotę tematyki pracy doktorskiej.

Celem badań Doktorantki było określenie genomicznych i transkryptomicznych determinantów oporności na wybrane leki antracyklinowe (daunorubicynę, doksorubicynę, idarubicynę, mitoksantron) w kontekście badań mikromacierzowych wśród pediatrycznych pacjentów ze zdiagnozowaną ostrą białaczką.

Swoje badania Doktorantka przeprowadziła w warunkach *in vitro* na materiale pozyskanym od dzieci z ostrą białaczką zdiagnozowanych w Katedrze i Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika. Badania próbek szpiku kostnego obejmowały kilka etapów: doświadczenia na mikromacierzach CGH w grupie 46 pacjentów (35 z ALL oraz 11 z AML), badania za pomocą mikromacierzy ekspresyjnych w grupie 55 pacjentów (47 z ALL oraz 8 z AML) oraz ocenę ekspresji wybranych 21 genów kandydatów metodą qPCR w grupie 155 pacjentów (121 z ALL, 34 z AML). Wyniki analiz za pomocą mikromacierzy oraz PCR skorelowano z odpowiedzią na zastosowanie leków antracyklinowych (daunorubicyna, doksorubicyna, idarubicyna, mitoksantron). Na badania uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Bioetycznej (KB/384/2006, KB 380/2012). Zakres przeprowadzonych badań świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki, zarówno teoretycznym jak i manualnym. Starannie weryfikowano wszystkie etapy procedur metodycznej i analitycznej w celu osiągnięcia wiarygodnych wyników. Wybrane przez Doktorantkę metody w pełni spełniają kryteria adekwatnie dobranych nowoczesnych narzędzi badawczych do realizacji postawionych celów.

Wyniki przedstawiono w postaci tabel i rycin oraz dokładnie omówiono w tekście. W dyskusji porównano otrzymane wyniki z tymi, które do tej pory uzyskano w innych badaniach. Na podstawie dobrze zaprojektowanych i starannie wykonanych badań Doktorantka wyciągnęła trzy w zasadne wnioski.

Uważam, że Doktorantka mogłaby wyjaśnić kryteria wyboru genów kandydatów (21 genów) do badania metodą qPCR. Ta uwaga nie umniejsza wartości doktoratu. Reasumując jest to bardzo dobrze wykonana praca badawcza wnosząca nowe, ważne obserwacje dla naukowców zajmujących się problematyką określenia genetycznych determinantów oporności na antracykliny. Praca wykonana jest z użyciem dobrze wystandaryzowanych metod badawczych, gwarantujących rzetelność przedstawionych wyników. W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie w Dyscyplinie Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu wniosek o dopuszczenie mgr Joanny Dejewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wysoko oceniana przeze mnie rozprawa wykazuje, że podłoże oporności na antracykliny w ostrych białaczkach pediatrycznych jest zjawiskiem złożonym, u którego podstaw leżą liczne aberracje chromosomów oraz zmiany w poziomie ekspresji wielu genów. Obszerne części rozprawy zostały opublikowane w dwóch recenzowanych pracach naukowych. Biorąc pod uwagę wagę problemu oraz uzyskane wyniki ośmielam się prosić Wysoką Radę w Dyscyplinie Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o wyróżnienie przedstawionej rozprawy doktorskiej.

Z poważaniem,

Prof. dr hab. n. med. Grzegorz Cybulski
specjalista genetyki klinicznej
specjalista laboratoryjnej genetyki medycznej
849 8811