

Prof. dr hab. med. Jerzy R. Kowalczyk

Recenzja rozprawy doktorskiej lek.med. Bartosza Chyżyńskiego p.t.

Rola polimorfizmu genu receptora TLR4 w występowaniu zakażeń bakteryjnych u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną w trakcie intensywnej chemioterapii

Strategia leczenia nowotworów układu krwiotwórczego u dzieci oparta jest o intensywną, wielolekową chemioterapię indukcyjną, aby w krótkim okresie czasu zniszczyć jak największą liczbę komórek nowotworowych. Takie postępowanie ma na celu zapobiec wytworzeniu przez blasty białaczkowe oporności na leki cytotoksyczne. Dzięki takiej strategii obecnie ponad 90% dzieci z rozpoznana ostrą białaczką limfoblastyczną ma szansę na pełne wyleczenie z choroby. Niestety, wiąże się to z ryzykiem różnych działań niepożądanych i toksyczności, w tym m.in. neutropenii i immunosupresji. Dlatego jednym z najgroźniejszych powikłań w trakcie chemioterapii są różnego rodzaju infekcje, przede wszystkim bakteryjne i grzybicze. Wystąpienie ciężkiej infekcji u dziecka w trakcie chemioterapii wiąże się często z przerwą w leczeniu białaczki, co w konsekwencji może zmniejszyć szansę na wyleczenie. Sama infekcja może również przebiegać w sposób zagrażający życiu pacjenta. Z tego względu niezwykle istotna jest możliwość poznania czynników ryzyka wystąpienia infekcji u każdego pacjenta. W ostatnich latach coraz częściej są dostarczane dowody na istnienie pewnych genetycznych predyspozycji do wystąpienia określonych typów infekcji. Najczęściej związane jest to z obecnością specyficznych mutacji dotyczących różnych genów kodujących białka biorących udział w procesach immunologicznych.

Dlatego uważam, że podjęcie próby próbę oceny roli mutacji genu receptora TLR4 w zakażeniach bakteryjnych u dzieci z ALL. jest w pełni uzasadnione i podjęcie tego tematu przez lek.med. Bartosza Chyżyńskiego zasługuje na najwyższe uznanie. Wyniki badań przeprowadzonych przez dr B. Chyżyńskiego przedstawione zostały w przekazanej mi do oceny rozprawie doktorskiej. Celem pracy było ustalenie czy obecność polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP Asp299Gly lub SNP Thr399Ile) w obrębie genu receptora TLR4 jest czynnikiem i który z tych polimorfizmów ma większy wpływ na występowanie zakażeń

bakteryjnych u dzieci. Doktorant uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego dotyczącą przeprowadzenia przedstawionych badań.

Do badania włączono 111 dzieci w wieku od ponad 1 rok do 16 roku życia (śr. 5,91 lat) leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej w Katedrze i Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii WUM, w latach 2016 – 2019. Wszyscy pacjenci byli leczeni protokołem ALL IC BFM 2009 obowiązującym w tym czasie w polskich ośrodkach pediatrycznych.

Rozprawa doktorska lek. med. Bartosza Chyżyńskiego liczy ogółem 94 strony maszynopisu, zawiera 25 tabel i 13 rycin. Stanowią one czytelną ilustrację pracy i są wykonane bardzo starannie. Piśmiennictwo liczy 156 pozycji polskich i obcojęzycznych, w większości z ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo jest właściwie wykorzystane w tekście. Praca jest podzielona na następujące części : „Wstęp”, „Cel pracy”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Piśmiennictwo”. Ponadto w pracy zamieszczono wykaz użytych skrótów, spis tabel i rycin, opinię Komisji Bioetycznej oraz streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Redakcyjny podział pracy na rozdziały i ich wzajemne proporcje objętościowe nie budzą zastrzeżeń.

We „Wstępie” doktorant przedstawił epidemiologię i patogenezę ostrej białaczki limfoblastycznej oraz historyczne i współczesne metody leczenia tej choroby u dzieci. Następnie dr Chyżyński dokonał przeglądu infekcji bakteryjnych, grzybiczych i wirusowych występujących w tej grupie pacjentów. W kolejnej części Wstępu doktorant omówił mechanizmy odporności nieswoistej, budowę receptorów Toll-like oraz mechanizmy odporności swoistej. Cel pracy został przedstawiony przez lek. B. Chyżyńskiego w sposób jasny, precyzyjny i nie nasuwający żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale pt. „Materiał i metodyka” doktorant przedstawił charakterystykę badanych pacjentów z ALL włączonych do badania. Dokładnie została też przedstawiona metodologia badania genotypu receptora TLR4 przy użyciu zaawansowanych metod genetyki molekularnej. Opisano także kryteria oceny występujących zakażeń u badanych chorych. Na końcu tego rozdziału przedstawiono zastosowane metody analizy statystycznej uzyskanych wyników badań.

Wyniki własnych badań doktorant przedstawiła w formie 23 tabel i 8 rycin. Dr B.Chyżyński dokonał analizy wyników genotypowa 111 dzieci z rozpoznaniem ALL

stwierdzając w zakresie SNP Asp299Gly w ponad 85% genotyp A/A, w ponad 13% - heterozygotyczność A/G oraz 1 pacjenta będącego homozygotą o genotypie G/G. W zakresie SNP Thr399Ile stwierdzono prawie u 85% homozygotyczność o genotypie C/C oraz ponad 15% heterozygot o genotypie C/T. U prawie 30% analizowanych pacjentów odnotowano co najmniej jeden epizod udowodnionego zakażenia bakteryjnego. Przeprowadzając szczegółową analizę poszczególnych genotypów u badanych dzieci, doktorant wykazał, że wystąpienie mutacji genu receptora TLR4 zarówno w obrębie SNP Asp299Gly jak i SNP Thr399Ile nie wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zakażeń bakteryjnych u dzieci z leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej. Nie stwierdził również takiego związku w odniesieniu do płci dziecka lub stratyfikacji do określonej grupy ryzyka.

Rozdział poświęcony „Dyskusji” dowodzi umiejętności naukowego myślenia i zdolności do właściwego przedstawiania wyników własnych badań przez lek. med. Bartosza Chyżyńskiego. Doktorant potrafił na podstawie własnych badań przeprowadzić dokładną analizę i dyskusję z wynikami uzyskanymi przez innych autorów i równocześnie przedstawiła krytyczną ocenę uzyskanych wyników zdając sobie sprawę z niedoskonałości związanych z analizą uzyskanych danych. Na podstawie analizy wyników własnych badań doktorant sformułował 2 końcowe wnioski. Pomimo tego, że wyniki wykonanych badań nie potwierdziły założonej hipotezy, doktorant wyraża przekonanie, że kontynuowanie badań w tym kierunku jest celowe w przyszłości będzie możliwe wyodrębnienie grupy dzieci z ALL o zwiększonym ryzyku zakażeń

Przedstawiona mi do oceny praca jest ważnym i oryginalnym wkładem doktoranta do rozumienia predyspozycji do zakażeń u dzieci leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej. Podjęcie tego tematu przez lek. med. Bartosza Chyżyńskiego było w pełni uzasadnione, a założone cele zostały osiągnięte. Sposób realizacji pracy świadczy o zdolności autora do logicznej interpretacji obserwowanych zjawisk oraz jego umiejętności przedstawiania swoich badań w formie pracy odpowiadającej wymogom stawianym rozprawom doktorskim.

Oceniając pozytywnie pracę doktorską pt. : „**Rola polimorfizmu genu receptora TLR4 w występowaniu zakażeń bakteryjnych u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną w trakcie intensywnej chemioterapii**” stwierdzam, że spełnia ona warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.nr 65, poz.695 z późn. zm.), w związku z art.179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i

nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn.zm.). W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. med. Bartosza Chyżyńskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, 3.07.2020 r.

KIEROWNIK KLINIKI

Prof. dr hab. med. Jerzy Kowalczyk