

**Prof. dr hab. n. med. Jerzy R. Kowalczyk**

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Karabin pt. „ Markery niestabilności genetycznej w ostrych białaczkach limfoblastycznych B-komórkowych (B-OBL) u dorosłych w korelacji z klinicznym przebiegiem choroby” .**

Ostra białaczka limfoblastyczna jest najczęstszym nowotworem u dzieci, natomiast u dorosłych jest znacznie rzadsza i stanowi ok.20% wszystkich białaczek. Wyniki leczenia również wykazują znaczne różnice, gdyż u dzieci aktualnie możemy wyleczyć 90% pacjentów po pierwszej linii leczenia. Natomiast u osób dorosłych odsetek ten jest znacznie niższy i u prawie 50% pacjentów dochodzi do nawrotu choroby. Jednym z czynników który spowodował, że w ciągu ostatnich kilkunastu lat w odniesieniu do białaczek dziecięcych nastąpiła spektakularna poprawa wyników leczenia, było między innymi poznanie biologii komórki białaczkowej, a przede wszystkim zmian genetycznych, które zachodzą w komórkach podlegających transformacji nowotworowej. Rearanżacje genetyczne w ostrej białaczce limfoblastycznej mają obecnie ogromne znaczenie przy stratyfikacji pacjentów do określonych grup ryzyka, co warunkuje dobór leczenia o odpowiedniej intensywności. Precyzyjna diagnostyka molekularna nabiera szczególnego znaczenia wówczas, gdy u pacjentów nie stwierdza się innych znaczących czynników ryzyka nawrotu choroby, a obecność określonych rearanżacji genetycznych może wskazywać na konieczność zastosowania bardziej intensywnych programów terapeutycznych.

Dlatego uważam, że podjęcie próby określenia i scharakteryzowania zmian genetycznych oraz markerów niestabilności genetycznej występujących u osób dorosłych z pre-B-komórkową ostrą białaczką limfoblastyczną przez mgr Karolinę Karabin zasługuje na najwyższe uznanie. Wyniki badań przeprowadzone przez mgr Karolinę Karabin zostały przedstawione i przekazane mi do oceny w rozprawie doktorskiej.

Celem pracy była charakterystyka zmian genetycznych występujących u dorosłych z ostrą białaczką limfoblastyczną pre-B-komórkową, ocena ekspresji genów kodujących enzymy mutatorowe jako markerów niestabilności genetycznej oraz analiza korelacji zaburzeń powyższych markerów z parametrami biologicznymi i klinicznymi tych chorych.

Realizując cel swoich badań doktorantka objęła badaniami 162 chorych z ostrą białaczką limfoblastyczną w wieku od 18 do 80 lat, leczonych w latach 2007 – 2017 w ośrodkach zgrupowanych w Polish Acute Leukemia Group.

Rozprawa doktorska p. Karoliny Karabin liczy 111 stron maszynopisu i zawiera 25 tabel oraz 12 rycin. Stanowią one czytelną ilustrację pracy i są wykonane bardzo starannie. Piśmiennictwo liczy 150 pozycji polskich i obcojęzycznych, które w większości zostały opublikowane w ciągu ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo jest właściwie wykorzystane w tekście. Praca ma typową formę prac doktorskich i jest podzielona na następujące części : „Wstęp”, „Założenia i cele pracy”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Piśmiennictwo”. Ponadto do pracy dołączony jest spis rycin, wykaz stosowanych skrótów, streszczenie w języku polskimi i angielskim oraz opinia Komisji Bioetycznej dopuszczająca wykonanie prezentowanych badań. Redakcyjny podział na rozdziały i ich wzajemne proporcje objętościowe nie budzą zastrzeżeń.

We „Wstępie” autorka przedstawiła klasyfikację ostrej białaczki limfoblastycznej wg różnych podziałów, takich, jak FAB, EGIL ,WHO oraz według grup ryzyka. Następnie omówiła zagadnienia niestabilności genetycznej jako czynnika progresji choroby oraz rolę białek biorących udział w powstawaniu niestabilności genetycznej. Ta część rozprawy doktorskiej oparta jest o najnowszą wiedzę uzyskaną na podstawie piśmiennictwa światowego.

„Cel pracy” autorka przedstawiła w sposób jasny i precyzyjny, nie nasuwający żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale pt. „Materiał metody” mgr Karolina Karabin krótko scharakteryzowała badaną grupę chorych oraz przedstawiła metody laboratoryjne izolacji komórek jednojądrowych i kwasów nukleinowych, wykrywania genów fuzyjnych, mutacji genów oraz oceny ekspresji mRNA genów wpływających na niestabilność genową. W końcowej części tego rozdziału przedstawiono zastosowane metody analizy statystycznej uzyskanych wyników.

Wyniki własnych badań doktorantka przedstawiła w tekście odpowiedniego rozdziału oraz w formie 21 tabel oraz 8 rycin. W badanej grupie u 33% chorych mgr K.Karabin wykryła rearanżację BCR-ABL1, u 2,6% chorych - rearanżację KMT2A-AFF1, re aranżację TCF3-PBX1 również u 2,6% chorych, natomiast u żadnego pacjenta nie wykryto rearanżacji ETV6-RUNX1. Chciałbym przy tym zwrócić uwagę na konieczność ujednoczenia nomenklatury genów – autorka w swojej pracy w większości stosuje starą nomenklaturę zamiast aktualnie obowiązującej nowej, np. ( rearanżacja MLL-AF4 powinna być zapisana jako KMT2A-AFF1, TEL-AML1 jako ETV6-RUNX1, E2A-PBX1 jako TCF3-PBX1). Przed ewentualnym opublikowaniem tych ważnych wyników badań własnych konieczne jest więc zastosowanie nowej nomenklatury. Badania molekularne wykonane u pacjentów, u których nie stwierdzono powszechnie występujących re aranżacji, pozwoliły na zakwalifikowanie 17 chorych (17%) do grupy BCR-ABL1-like. W ten sposób autorka wyodrębniła 5 podgrup genetycznych pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną, a mianowicie z genem fuzyjnym BCR-ABL1, z genem fuzyjnym KMT2A-AFF1, z genem fuzyjnym TCF3-PBX1, z obecnością markerów BCR-ABL1-like oraz grupą pacjentów nie zakwalifikowanych do żadnej z powyższych podgrup genetycznych. Oceniając ekspresję mRNA enzymów mutatorowych doktorantka wykazała wysoką ekspresję kompleksu RAGs co wydaje się być markerem niestabilności genetycznej u pacjentów z rearanżacją BCR-ABL1, a u 29% pacjentów z ALL wykazano niestabilność genetyczną typu CNA, w tym 40% stanowili pacjenci z jedną mutacją, 31% - z dwiema mutacjami, obecność trzech mutacji stwierdzono u 24% pacjentów.

Analizując uzyskane wyniki mgr Karolina Karabin doszła do wniosku, że najlepszym klinicznie markerem stratyfikacji chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną w polskiej populacji jest obecność mutacji typu CNA. Na ryzyko nawrotu białaczki i stan chorego szczególnie wpływa liczba mutacji typu CNA, obecność delecji w genie ETV6 oraz obecność delecji genu IKZF1 u chorych bez geny fuzyjnego BCR-ABL1. Tym niemniej podjęte przez doktorantkę próby oceny prawdopodobieństwa przeżycia poszczególnych grup pacjentów w zależności od stwierdzonych zaburzeń genowych, ze względu na małe liczebności tych grup, muszą być traktowane z dużą dozą ostrożności.

Rozdział poświęcony dyskusji dowodzi umiejętności naukowego myślenia i zdolności do właściwego przedstawienia wyników własnych badań przez mgr

Karolinę Karabin. Doktorantka potrafiła 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 ograniczeń. Na podstawie analizy wyników własnych badań doktorantka sformułowała 6 końcowych wniosków, które dokumentują osiągnięcie postawionych celów.

Przedstawiona mi do oceny praca jest ważnym i oryginalnym wkładem doktorantki w rozumieniu biologii komórki nowotworowej w ostrej białaczce limfoblastycznej oraz wskazuje praktyczne aspekty dotyczące stratyfikacji pacjentów do odpowiednich grup ryzyka. Podjęcie tego tematu przez mgr Karolinę Karabin było w pełni uzasadnione, a założone cele zostały osiągnięte. Sposób realizacji pracy świadczy o zdolności autorki do logicznej interpretacji obserwowanych zjawisk oraz jej umiejętności przedstawienia własnych badań w formie pracy odpowiadającej wymogom stawianym rozprawom doktorskim.

Oceniając pozytywnie pracę doktorską pt.: „ Markery niestabilności genetycznej w ostrej białaczce limfoblastycznej w ostrych białaczkach limfoblastycznych B-komórkowych (B-OBL) u dorosłych w korelacji z klinicznym przebiegiem choroby” 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.2016 poz.882 z późn. zm.). W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wnioski o dopuszczenie mgr Karoliny Karabin do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę nowatorski charakter pracy oraz nowoczesny warsztat badawczy doktorantki, wnioskuję o wyróżnienie tej pracy.

Lublin, 8.11. 2018.

**KIEROWNIK KLINIKI**

**prof. dr hab. med. Jerzy Kowalszyk**

Klinika Hematologii, Onkologii  
i Transplantologii Dziecięcej  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
20-033 Lublin, ul. prof. Antoniego Gebala 8  
tel. 81-71-65-520, fax 81-747-72-20