

Rozprawy doktorskiej lek. Julii Dudkiewicz-Garbicz

## **Inhibicja CDK12/13 jako strategia przełamывania oporności na deksametazon w ostrej białaczce limfoblastycznej**

Zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 20 maja 2026 roku o powołaniu mnie na recenzenta wyżej wymienionej rozprawy, mam zaszczyt przedstawić poniższą opinię.

Oceniając przedłożoną mi rozprawę na stopień doktora nauk medycznych, dokonam jej charakterystyki w zakresie:

1. wartości celu badawczego
2. poprawności metodycznej
3. redakcji przedłożonej pracy
4. znaczenia wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz.

### **1. Wartość celu badawczego**

Lek. Julia Dudkiewicz-Garbicz w swojej rozprawie doktorskiej zajęła się problemem sterydooporności w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci. Od lat wiadomo, że zła odpowiedź na sterydy jest jednym z czynników związanych z gorszym rokowaniem w tej chorobie, co potwierdza wartość podjętego celu badawczego.

We Wstępie Doktorantka w sposób dokładny omówiła najpierw biologię, etiopatogenezę, symptomatologię, diagnostykę i leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci. Bardzo szczegółowo została opisana klasyfikacja genetyczna i molekularna ostrej białaczki limfoblastycznej. Następnie w sposób bardzo przejrzysty zostały scharakteryzowane zjawisko i mechanizmy sterydooporności w ostrej białaczce limfoblastycznej. Doktorantka szczegółowo scharakteryzowała kinazy CDK12 i CDK13 jako potencjalne cele terapeutyczne w tej najczęstszej białaczce u dzieci. Z tego i innych fragmentów Wstępu wynika niezbicie, że Doktorantka jest bardzo dobrze zaznajomiona z tematyką wykonywanych badań.

Ponieważ komórki odporne na glikokortykosteroidy nie są w stanie uruchomić kluczowych programów transkrypcyjnych, które napędzają szlaki proapoptotyczne i przeprogramowanie metaboliczne, Doktorantka postawiła hipotezę, że zahamowanie kompleksu CDK12/CDK13/CCNK, odpowiedzialnego za podtrzymywanie onkogennej transkrypcji przez regulację polimerazy RNA II, może przywrócić podatność komórek białaczkowych na apoptozę.

Głównym celem pracy doktorskiej była ocena potencjalnego synergistycznego efektu przeciwbiałaczkowego sterydoterapii i leków hamujących kinazy CDK12 i CDK13. Cel ten mieści się w trendzie nowoczesnych strategii badawczych we współczesnej Europie.

## **2. Poprawność metodyczna**

### **2.1 Materiał i metody**

Materiał badawczy stanowiły dobrze zdefiniowane linie komórkowe wywodzące się z komórek ostrej białaczki limfoblastycznej, a także komórki szpiku kostnego pochodzące od dorosłych pacjentów z nowo rozpoznaną ostrą białaczką limfoblastyczną. Do badań zastosowano szeroki wachlarz testów molekularnych, cytometrycznych i immunohistochemicznych. Metodyka badań została opisana w sposób staranny i szczegółowy. Spełnia ona kryteria dobrej praktyki badawczej i laboratoryjnej. Ponadto, w pierwszym etapie badań Doktorantka przeanalizowała ekspresję CDK12, CDK13 i CCNK w komórkach białaczkowych i komórkach zdrowych na podstawie dostępnych publicznych baz danych proteomicznych i transkryptomicznych.

### **2.2 Wyniki**

Wyniki zostały przedstawione w sposób szczegółowy i staranny. Analizując dane transkryptomiczne pochodzące z publicznych baz danych, lek. Julia Dudkiewicz-Garbicz wykazała nadekspresję CDK12, CDK13 i CCNK w różnych podtypach ostrej białaczki limfoblastycznej, co wg niej potwierdza hipotezę, że moduł transkrypcyjny CDK12/13-Cyklina K ma istotne znaczenie w tych białaczkach. Szczególnie często obserwowano nadekspresję CDK13 w szeregu podtypach zarówno ostrej białaczki limfoblastycznej z komórek prekursorowych limfocytów B, jak i w białaczce T-komórkowej.

Opisane przez Doktorantkę wyniki badań immunohistochemicznych wskazały, że CDK13 wykazuje najbardziej spójny profil ekspresji w ostrej białaczce limfoblastycznej z komórek prekursorowych limfocytów B, porównywalny z ekspresją PAX5, swoistego czynnika

transkrypcyjnego w tych komórkach. Natomiast ekspresja białek CDK12 i CCNK w blastach białaczkowych była bardziej heterogenna, w wielu przypadkach relatywnie słaba.

Aby ustalić podstawową wrażliwość modeli ostrej białaczki limfoblastycznej na sterydy i inhibicję CDK12/13, lek. Julia Dudkiewicz-Garbicz przeprowadziła skrining na szeregu liniach komórkowych ostrej białaczki limfoblastycznej i dwóch próbkach od pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną inkubowanych z deksametazonem i selektywnymi inhibitorami CDK12/13 – SR4835 i THZ531. Doktorantka wykazała, że inhibitory CDK12/13 mają szeroką aktywność cytotoksyczną na badanych liniach komórkowych. Co ważne ta aktywność była stwierdzana również w liniach komórkowych opornych na deksametazon. Kolejne eksperymenty miały na celu ocenę wpływu inhibicji CDK12/13 na zwiększenie efektu działania sterydów. Zbadano synergistyczny efekt jednoczesnego podania deksametazonu i inhibitorów SR4835 lub THZ531 na szeregu linii komórkowych z komórek ostrej białaczki limfoblastycznej, na komórkach pobranych przy rozpoznaniu ostrej białaczki limfoblastycznej i na komórkach jednojądrzastych z krwi obwodowej od zdrowych dawców. Kombinacje SR4835 z deksametazonem i THZ531 z deksametazonem wykazywały synergistyczny efekt przeciw-białaczkowy w większości testowanych liniach komórkowych. Uważam, że komórki jednojądrzaste z krwi obwodowej od zdrowych dawców nie były tutaj właściwym modelem porównawczym, bo zawierają głównie dojrzałe limfocyty. Takim materiałem mogłyby być prawidłowe komórki prekursorowe limfocytów B wysortowane ze szpików kostnych nie białaczkowych. Jak słusznie Doktorantka stwierdza konieczne są badania na większej grupie pacjentów, aby ocenić znaczenie synergii sterydów i inhibitorów CDK12/13 w nowo rozpoznanej ostrej białaczce limfoblastycznej. Na potencjalny mechanizm tej synergii Doktorantka wskazuje nasilenie procesów apoptozy i nekrozy komórek, co między innymi wykazano w zasadowych testach kometowych. Wyniki badań wskazują, że inhibicja kinaz transkrypcyjnych CDK12 i CDK13 prowadzi do znacznego nagromadzenia uszkodzeń genomowego DNA, co w synergii z deksametazonem prowadzi do śmierci komórek.

### **3. Redakcja przedłożonej pracy**

Rozprawę rozpoczyna spis treści (str. 9-10); następnie typowy układ: wykaz rycin: str. 11; wykaz tabel: str. 12; wykaz stosowanych skrótów: str. 13-16; streszczenie w języku polskim: str. 17; streszczenie w języku angielskim: str. 18; wstęp: str. 19-47; założenia i cel pracy: str. 48-49; materiał i metody: str. 49-58; wyniki: str. 60-104; dyskusja: str. 105-108; wnioski: str.

108 i aneks z Oświadczeniem Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (str. 122). W pracy umieszczono 9 tabel i 37 rycin. Piśmiennictwo (str. 109-121) zawiera 188 pozycji w języku angielskim, w tym 43 z ostatniego pięciolecia. Praca napisana jest poprawnym językiem angielskim i ma bardzo staranną, nowoczesną szatę graficzną.

#### **4. Wartość wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz.**

W dyskusji lek. Julia Dudkiewicz-Garbicz odnosi swoje wyniki do danych z piśmiennictwa światowego. Doktorantka podkreśla, że dokładne mechanizmy sterydooporności w ostrej białaczce limfoblastycznej nie są do końca poznane. Stąd postawiono hipotezę, że przeżycie komórek białaczkowych opornych na sterydy jest związane z ciągłą wysoką transkrypcją genów z sieci związanych z przeżyciem komórek. Taką zależność można potencjalnie zablokować celując w kompleks CDK12/CDK13/Cyklina K.

Sformułowane wnioski stanowią wyczerpującą odpowiedź na postawione cele i zadania badawcze. Doktorantka wykazała, że CDK12/13 stanowi potencjalny punkt uchwytu działania leków w ostrej białaczce limfoblastycznej z komórek prekursorowych limfocytów B odpornej na sterydoterapię. Farmakologiczna inhibicja CDK12 i CDK13 ponownie uwrażliwia na sterydy komórki białaczkowe odporne na leczenie. Jak słusznie Doktorantka konkluduje, dla zastosowania inhibitorów CDK12 i CDK13 w badaniach klinicznych u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną, konieczne są najpierw dalsze badania *in vitro* i na modelach zwierzęcych.

### **WNIOSEK KOŃCOWY**

Cel pracy wynika z przedstawionych we Wstępie danych z piśmiennictwa, metodyka badań jest nowoczesna i właściwa, a analiza materiału wnikliwa.

Biorąc pod uwagę wartość merytoryczną pracy, wszechstronny profil eksperymentalny, wkład pracy, przeprowadzenie wnikliwej dyskusji wyników oraz staranną szatę graficzną uważam że Rozprawa Doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668).

Na tej podstawie zwracam się do Pani Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Julii Dudkiewicz-Garbicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zabrze, 24 lipca 2026 r.

Prof. dr hab. n. med. Tomasz Szczepański