



Rzeszów 30.12.2025

OCENA

**ROZPRAWY NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH I NAUK O
ZDROWIU W DYSCYPLINIE NAUKI MEDYCZNE**

lek. Filipa Aleksandra Garbicza

złożonej do

**Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu
Medycznego**

***pt. "Rola kinaz PIM w komórkach nowotworowych
i mikrośrodowisku szpiczaka mnogiego"***

Promotor: prof. dr hab. n. med. Przemysław Juszczynski

Szpiczak mnogi (plazmocytowy, MM) to nowotwór układu krwiotwórczego, który wynika z niekontrolowanego namnażania się nieprawidłowego klonu komórek plazmatycznych. Nowoczesne metody terapeutyczne, jak np. terapie komórkami CAR-T, poprawiają rokowanie, jednak choroba uznawana jest za nieuleczalną. Lek. Filip Garbicz postawił sobie za cel analizę ekspresji i funkcji kinaz PIM zarówno w komórkach szpiczakowych, jak i otaczającej je niszy szpiku kostnego. Cel pracy został wybrany bardzo zasadnie wpisując się w panel badań



poszukujących nowych celów terapeutycznych mogących być wykorzystanymi w terapii szpiczaka plazmocytoowego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa napisana jest w języku angielskim i ma układ typowy dla tego typu opracowań. Liczy 226 stron wydruku komputerowego, w tym 28 tabel, 54 ryciny. Doktorant zacytował 406 pozycji piśmiennictwa praktycznie w całości anglojęzycznego oraz w znacznym stopniu nie starszego niż pięć lat.

We Wstępie Autor przedstawił aktualny stan wiedzy dotyczący epidemiologii, etiopatogenezy, terapii MM oraz jego mikrośrodowiska uwzględniając rolę poszczególnych populacji komórkowych w nim występujących. Druga część wstępu poświęcona jest kinazom PIM i ich fizjologicznym funkcjom oraz ich roli w patogenezie i terapii nowotworów hematologicznych. Rozdział ten nie budzi zastrzeżeń ze strony Recenzenta.

Jako główny cel pracy Doktorant wyznaczył sobie zbadanie roli kinaz PIM w komórkach szpiczaka mnogiego, analizując ich wpływ zarówno na złośliwe komórki plazmatyczne, jak i otaczające mikrośrodowisko, w szczególności komórki śródbłonna związane z MM.

Jako cele szczegółowe zostały wymienione:

- Określenie ekspresji i aktywacji kinaz PIM1, PIM2 i PIM3 w szpiczaku plazmocytoowym.
- Ocenę zależności funkcji komórek szpiczaka od kinaz PIM.
- Scharakteryzowanie transkrypcyjnych i mechanistycznych konsekwencji hamowania PIM.
- Zbadanie roli kinaz PIM w mikrośrodowisku związanym z MM.
- Ocenę potencjału terapeutycznego hamowania kinaz PIM w przedklinicznych modelach MM.



W badaniach wykorzystano 31 linii komórkowych oraz komórki szpiku kostnego pozyskane od pacjentów chorujących na szpiczaka mnogiego oraz zdrowych dawców. Dodatkowo linia JJN3 była podawana modyfikacjom genetycznym. Metody badawcze obejmowały hodowle komórkowe, mikroskopię, cytometrię przepływową, sortowanie komórek, luminometrię, Western-blot, barwienia immunohistochemiczne, metody inżynierii genetycznej oraz metody biologii molekularnej włącznie ze sekwencjonowaniem. Dodatkowo prowadzono także badania w modelu mysim. Na podkreślenie zasługuje fakt, że zastosowano liczne i nowoczesne metody badawcze, które zostały odpowiednio dobrane do założonych celów. Wybór metod wskazuje na wysoki poziom znajomości metod badawczych Doktoranta i wysoki poziom naukowy ośrodka realizującego projekt, oraz zdolność lek. Filipa Garbicza do projektowania badań naukowych.

Projekt uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Instytucie Hematologii i Transfuzjologii - nr 43/2016, której skan jest załączony do rozprawy.

Odpowiednik klasycznego rozdziału Wyniki, stanowią dwa rozdziały, tj.: „*Functions of PIM kinases in multiple myeloma cells.*” oraz „*Functions of PIM kinases in MM microenvironment.*”. W rozdziałach tych opisano wyniki kompleksowych badań *in vitro* i *in vivo* dotyczących ekspresji kinaz PIM w liniach komórkowych oraz komórkach pierwotnych, a także wpływ inhibitorów kinaz PIM na żywotność i funkcję komórek MM oraz komórek endotelium. W mojej opinii kluczowymi i nowatorskimi wynikami są ocena ekspresji PIM1/2/3 za pomocą mikromacierzy tkankowych w szpiku kostnym chorych na MM i zdrowych dawców. Połączenie wyników badań *in vitro* z danymi klinicznymi pozwoliło na wykazanie, że wysoka ekspresja PIM1, PIM2 i PIM3 koreluje z krótszym całkowitym czasem przeżycia (OS) i czasem przeżycia wolnym od progresji choroby (PFS), a PIM2 i PIM3 pozostają niezależnymi predyktorami krótszego OS, nawet po dostosowaniu do ustalonych czynników ryzyka szpiczaka mnogiego. Wyniki badań *in vitro* i w modelu mysim wskazały, że MEN1703 jest najbardziej obiecującym z przebadanych



inhibitorów kinaz PIM. Jednak jego istotny wpływ na komórki MM może się wiązać z efektem „*off-target*” i wpływem na inne kinazy. Badania nad biologią nowotworów od dawna wskazują, że nowotwór złośliwy nie może być rozpatrywany jedynie jako skupisko komórek neoplastycznych wyizolowanych z otaczających tkanek a jako dynamiczne mikrośrodowisko, w którego skład wchodzi otaczające go prawidłowe komórki. Z tego powodu Doktorant podjął się próby zbadania roli kinaz PIM w mikrośrodowisku związanym z komórkami szpiczakowymi i skupił się na komórkach endotelialnych (EC). Autor potwierdził ważną rolę kinaz PIM w angiogenezie oraz innych funkcjach komórek śródbłonna. MEN1703 poprzez inhibicję kinaz PIM w komórkach EC osłabia ich korzystny wpływ na komórki szpiczakowe. Jest to wynik ważny ze względu na potencjał translacyjny, wskazujący, że inhibitory kinaz PIM mogą wpływać nie tylko bezpośrednio na komórki MM ale też na otaczające je mikrośrodowisko.

Rozdział Wnioski (*Conclusions*) został przygotowany w formie opisowej i w dużej mierze stanowi podsumowanie najistotniejszych wyników. Z kolei w podrozdziale pt. „*Impact*”, Autor skupił się na możliwym praktycznym wykorzystaniu otrzymanych wyników, a w podrozdziale pt. „*Limitations*” na krytycznym spojrzeniu na badania własne i ich ograniczenia. W tym rozdziale Doktorant przedstawił także relatywnie krótką dyskusję wyników. Bardzo ciekawie przedstawia się podrozdział zatytułowany „*Outlook*” przedstawiający możliwości dalszych badań mogących odpowiedzieć na pytania badawcze, jakie Autor stawia na podstawie dotychczasowych wyników, co wskazuje na dojrzałość Doktoranta jako naukowca i chęć kontynuowania badań nad rolą kinaz PIM w patogenezie i terapii szpiczaka mnogiego.

Doktorant wykazał się dogłębną znajomością przedmiotu badań, umiejętnością tzw. „*study design*” oraz współpracy z innymi jednostkami naukowymi krajowymi i zagranicznymi, zdolnością dogłębnej analizy uzyskanych wyników i konfrontacji ich z aktualnym stanem wiedzy.



Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane tego typu opracowaniom, a obszerność zaprezentowanych wyników nawet przekracza zwyczajowy poziom przyjęty dla rozpraw doktorskich. Obowiązkiem recenzenta jest jednak sformułowanie uwag krytycznych. Uwagi pozwolę pogrupować sobie na dotyczące strony edytorskiej pracy oraz jej zagadnień metodologicznych i merytorycznych.

Uwagi dotyczące edytorskiej strony pracy, nie wpływające w żaden sposób na jej ocenę merytoryczną:

- ✓ W przypadku rycin nr 1 i 5 brakuje wskazania czy zdjęcia obrazujące histopatologiczne cechy szpiczaka plazmocytoowego pochodzą ze źródeł własnych czy są zaczerpnięte z innych źródeł,
- ✓ Niektóre cytacje literatury (136, 217, 249, 328, 366) mają niepełny zapis np. brak nazwy czasopisma lub roku publikacji,

Uwagi dotyczące metodyki i zagadnień merytorycznych:

- ✓ W swoich rozważaniach na efektami „*off-target*” MEN1703 Autor głównie skupił się na możliwych pozytywnych efektach tego zjawiska, dla pełnego wglądu w to zagadnienie warto przedstawić także możliwe negatywne efekty mogące nieść ograniczenia praktycznego zastosowania tego inhibitora PIM.

Podsumowując, uważam że przedstawiona mi do oceny 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). Wnoszę do wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Filipa Aleksandra Garbicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na kompleksowość wykonanych badań oraz obfitość uzyskanych danych empirycznych, nowoczesność zastosowanych metod,



wysoki poziom naukowy oraz potencjał aplikacyjny otrzymanych wyników
wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

Z wyrazami szacunku.

prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Jacek Tabarkiewicz





Rzeszów 30.12.2025

OCENA

ROZPRAWY NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH I NAUK O ZDROWIU W DYSCYPLINIE NAUKI MEDYCZNE

lek. Filipa Aleksandra Garbicza

złożonej do

**Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu
Medycznego**

***pt. "Rola kinaz PIM w komórkach nowotworowych
i mikrośrodowisku szpiczaka mnogiego"***

Promotor: prof. dr hab. n. med. Przemysław Juszczynski

Szpiczak mnogi (plazmocytowy, MM) to nowotwór układu krwiotwórczego, który wynika z niekontrolowanego namnażania się nieprawidłowego klonu komórek plazmatycznych. Nowoczesne metody terapeutyczne, jak np. terapie komórkami CAR-T, poprawiają rokowanie, jednak choroba uznawana jest za nieuleczalną. Lek. Filip Garbicz postawił sobie za cel analizę ekspresji i funkcji kinaz PIM zarówno w komórkach szpiczakowych, jak i otaczającej je niszy szpiku kostnego. Cel pracy został wybrany bardzo zasadnie wpisując się w panel badań

poszukujących nowych celów terapeutycznych mogących być wykorzystanymi w terapii szpiczaka plazmocytoowego.

Przedstawiona do recenzji rozprawa napisana jest w języku angielskim i ma układ typowy dla tego typu opracowań. Liczy 226 stron wydruku komputerowego, w tym 28 tabel, 54 ryciny. Doktorant zacytował 406 pozycji piśmiennictwa praktycznie w całości anglojęzycznego oraz w znacznym stopniu nie starszego niż pięć lat.

We Wstępie Autor przedstawił aktualny stan wiedzy dotyczący epidemiologii, etiopatogenezy, terapii MM oraz jego mikrośrodowiska uwzględniając rolę poszczególnych populacji komórkowych w nim występujących. Druga część wstępu poświęcona jest kinazom PIM i ich fizjologicznym funkcjom oraz ich roli w patogenezie i terapii nowotworów hematologicznych. Rozdział ten nie budzi zastrzeżeń ze strony Recenzenta.

Jako główny cel pracy Doktorant wyznaczył sobie zbadanie roli kinaz PIM w komórkach szpiczaka mnogiego, analizując ich wpływ zarówno na złośliwe komórki plazmatyczne, jak i otaczające mikrośrodowisko, w szczególności komórki śródbłonna związane z MM.

Jako cele szczegółowe zostały wymienione:

- Określenie ekspresji i aktywacji kinaz PIM1, PIM2 i PIM3 w szpiczaku plazmocytoowym.
- Ocenę zależności funkcji komórek szpiczaka od kinaz PIM.
- Scharakteryzowanie transkrypcyjnych i mechanistycznych konsekwencji hamowania PIM.
- Zbadanie roli kinaz PIM w mikrośrodowisku związanym z MM.
- Ocenę potencjału terapeutycznego hamowania kinaz PIM w przedklinicznych modelach MM.



W badaniach wykorzystano 31 linii komórkowych oraz komórki szpiku kostnego pozyskane od pacjentów chorujących na szpiczaka mnogiego oraz zdrowych dawców. Dodatkowo linia JJN3 była podawana modyfikacjom genetycznym. Metody badawcze obejmowały hodowle komórkowe, mikroskopię, cytometrię przepływową, sortowanie komórek, luminometrię, Western-blot, barwienia immunohistochemiczne, metody inżynierii genetycznej oraz metody biologii molekularnej włącznie ze sekwencjonowaniem. Dodatkowo prowadzono także badania w modelu mysim. Na podkreślenie zasługuje fakt, że zastosowano liczne i nowoczesne metody badawcze, które zostały odpowiednio dobrane do założonych celów. Wybór metod wskazuje na wysoki poziom znajomości metod badawczych Doktoranta i wysoki poziom naukowy ośrodka realizującego projekt, oraz zdolność lek. Filipa Garbicza do projektowania badań naukowych.

Projekt uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Instytucie Hematologii i Transfuzjologii - nr 43/2016, której skan jest załączony do rozprawy.

Odpowiednik klasycznego rozdziału Wyniki, stanowią dwa rozdziały, tj.: „*Functions of PIM kinases in multiple myeloma cells.*” oraz „*Functions of PIM kinases in MM microenvironment.*”. W rozdziałach tych opisano wyniki kompleksowych badań *in vitro* i *in vivo* dotyczących ekspresji kinaz PIM w liniach komórkowych oraz komórkach pierwotnych, a także wpływ inhibitorów kinaz PIM na żywotność i funkcję komórek MM oraz komórek endotelium. W mojej opinii kluczowymi i nowatorskimi wynikami są ocena ekspresji PIM1/2/3 za pomocą mikromacierzy tkankowych w szpiku kostnym chorych na MM i zdrowych dawców. Połączenie wyników badań *in vitro* z danymi klinicznymi pozwoliło na wykazanie, że wysoka ekspresja PIM1, PIM2 i PIM3 koreluje z krótszym całkowitym czasem przeżycia (OS) i czasem przeżycia wolnym od progresji choroby (PFS), a PIM2 i PIM3 pozostają niezależnymi predyktorami krótszego OS, nawet po dostosowaniu do ustalonych czynników ryzyka szpiczaka mnogiego. Wyniki badań *in vitro* i w modelu mysim wskazały, że MEN1703 jest najbardziej obiecującym z przebadanych

inhibitorów kinaz PIM. Jednak jego istotny wpływ na komórki MM może się wiązać z efektem „*off-target*” i wpływem na inne kinazy. Badania nad biologią nowotworów od dawna wskazują, że nowotwór złośliwy nie może być rozpatrywany jedynie jako skupisko komórek neoplastycznych wyizolowanych z otaczających tkanek a jako dynamiczne mikrośrodowisko, w którego skład wchodzi otaczające go prawidłowe komórki. Z tego powodu Doktorant podjął się próby zbadania roli kinaz PIM w mikrośrodowisku związanym z komórkami szpiczakowymi i skupił się na komórkach endotelialnych (EC). Autor potwierdził ważną rolę kinaz PIM w angiogenezie oraz innych funkcjach komórek śródbłonna. MEN1703 poprzez inhibicję kinaz PIM w komórkach EC osłabia ich korzystny wpływ na komórki szpiczakowe. Jest to wynik ważny ze względu na potencjał translacyjny, wskazujący, że inhibitory kinaz PIM mogą wpływać nie tylko bezpośrednio na komórki MM ale też na otaczające je mikrośrodowisko.

Rozdział Wnioski (*Conclusions*) został przygotowany w formie opisowej i w dużej mierze stanowi podsumowanie najistotniejszych wyników. Z kolei w podrozdziale pt. „*Impact*”, Autor skupił się na możliwym praktycznym wykorzystaniu otrzymanych wyników, a w podrozdziale pt. „*Limitations*” na krytycznym spojrzeniu na badania własne i ich ograniczenia. W tym rozdziale Doktorant przedstawił także relatywnie krótką dyskusję wyników. Bardzo ciekawie przedstawia się podrozdział zatytułowany „*Outlook*” przedstawiający możliwości dalszych badań mogących odpowiedzieć na pytania badawcze, jakie Autor stawia na podstawie dotychczasowych wyników, co wskazuje na dojrzałość Doktoranta jako naukowca i chęć kontynuowania badań nad rolą kinaz PIM w patogenezie i terapii szpiczaka mnogiego.

Doktorant wykazał się dogłębną znajomością przedmiotu badań, umiejętnością tzw. „*study design*” oraz współpracy z innymi jednostkami naukowymi krajowymi i zagranicznymi, zdolnością dogłębnej analizy uzyskanych wyników i konfrontacji ich z aktualnym stanem wiedzy.



Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane tego typu opracowaniom, a obszerność zaprezentowanych wyników nawet przekracza zwyczajowy poziom przyjęty dla rozpraw doktorskich. Obowiązkiem recenzenta jest jednak sformułowanie uwag krytycznych. Uwagi pozwolę pogrupować sobie na dotyczące strony edytorskiej pracy oraz jej zagadnień metodologicznych i merytorycznych.

Uwagi dotyczące edytorskiej strony pracy, nie wpływające w żaden sposób na jej ocenę merytoryczną:

- ✓ W przypadku rycin nr 1 i 5 brakuje wskazania czy zdjęcia obrazujące histopatologiczne cechy szpiczaka plazmocytozy pochodzą ze źródeł własnych czy są zaczerpnięte z innych źródeł,
- ✓ Niektóre cytacje literatury (136, 217, 249, 328, 366) mają niepełny zapis np. brak nazwy czasopisma lub roku publikacji,

Uwagi dotyczące metodyki i zagadnień merytorycznych:

- ✓ W swoich rozważaniach na efektami „*off-target*” MEN1703 Autor głównie skupił się na możliwych pozytywnych efektach tego zjawiska, dla pełnego wglądu w to zagadnienie warto przedstawić także możliwe negatywne efekty mogące nieść ograniczenia praktycznego zastosowania tego inhibitora PIM.

Podsumowując, uważam że przedstawiona mi do oceny 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). Wnoszę do wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Filipa Aleksandra Garbicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na kompleksowość wykonanych badań oraz obfitość uzyskanych danych empirycznych, nowoczesność zastosowanych metod,



wysoki poziom naukowy oraz potencjał aplikacyjny otrzymanych wyników
wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.