

## **Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych pt. "Prognostyczne znaczenie czynników indukowanych hipoksją(HIF-1 alfa i HIF-2 alfa) u chorych na ostrą białaczkę szpikową" mgr Donaty Szymczak**

Ostre białaczki szpikowe należą do nowotworów układu krwiotwórczego. Najczęściej występują u osób dorosłych, zapadalność na nie wzrasta wraz z wiekiem i u osób > 65 r. życia wynosi ~10/100 000 ludności/rok. Rokowanie zależy od stwierdzanych zmian cytogenetycznych i molekularnych oraz cech klinicznych i badań laboratoryjnych. Czynniki prognostyczne pozwalają na wybranie optymalnej terapii, która przyniesie najlepsze wyniki leczenia a będzie jak najmniej toksyczne. Doktorantka postanowiła zbadać rolę czynników wpływających na metabolizm tlenowy komórek nowotworowych w ostrej białaczce szpikowej.

Celem pracy było zbadanie ekspresji czynników transkrypcyjnych HIF-1 alfa, HIF-2 alfa, czynników je regulujących PHD-2 i PHD-3 oraz białka VHL, biorącego udział w metabolizmie HIFs, czyli czynników indukowanych hipoksją i jakie to ma znaczenie prognostyczne z uwzględnieniem chorych, którzy uzyskali remisję i chorych, którzy remisji nie uzyskali oraz chorych, którzy przeżyli chemioterapię, a chorych, u których nastąpił zgon. Ponadto mgr Donata Szymczak chciała ustalić, czy są różnice w ekspresji HIFs, PDHs i VHL przed zastosowaniem chemioterapii i 48 godzin po podaniu leczenia. Kolejnym celem pracy było ustalenie czy istnieją różnice pomiędzy HIFs, PDHs i VHL między szpikiem kostnym a krwią obwodową u tego samego chorego przed podaniem chemioterapii i jakie ma to znaczenie prognostyczne.

Grupę badaną stanowiło 26 osób chorych na ostrą białaczkę szpikową; 13 kobiet i 13 mężczyzn. Chorzy byli w wieku od 21-75 lat, mediana wieku-54 lata, średnia wieku-51 lat. Do badania kwalifikowano chorych z obecnością komórek nowotworowych we krwi obwodowej. Grupę kontrolną stanowiło 20 zdrowych dawców szpiku do przeszczepów allogenicznych (mediana wieku 29 lat). Antygeny powierzchniowe i cytoplazmatyczne określano z użyciem cytometrii przepływowej. Antygeny powierzchniowe określające blasty i komórki mieloidalne w szpiku i krwi obwodowej były następujące: CD34, CD117, CD33, CD 45 i HLA-DR. W komórkach blastycznych i mieloblastach zdrowych osób oznaczano antygeny wewnątrzkomórkowe: HIF-1, HIF-2, PHD-2, PHD-3 i VHL.

Doktorantka stwierdziła, że średni odsetek komórek HIF-1<sup>+</sup>, PHD-3<sup>+</sup> i VHL<sup>+</sup> jest istotnie wyższy w populacji blastów wyizolowanych ze szpiku kostnego u chorych w porównaniu ze zdrowymi. Średni odsetek komórek PHD-2<sup>+</sup> był istotnie wyższy u zdrowych w porównaniu z chorymi. Średni odsetek blastów HIF-2 alfa dodatnich w szpiku kostnym oraz we krwi obwodowej przed leczeniem był wyższy u chorych, którzy uzyskali całkowitą remisję (CR) w porównaniu z osobami, które remisji nie uzyskały (NR). Natomiast po przeprowadzonym leczeniu indukcyjnym był we krwi obwodowej wyraźnie niższy w grupie CR w porównaniu z NR. Ponadto odsetek blastów HIF-2<sup>+</sup> był wyższy w szpiku kostnym i krwi obwodowej przed leczeniem, a niższy we krwi obwodowej po leczeniu w grupie osób żyjących w porównaniu z osobami, u których doszło do zgonu. W grupie osób żyjących wyższy był odsetek komórek PHD-3 dodatnich. W blastach chorych, którzy zmarli istotnie statystycznie wyższy był odsetek blastów HIF-1<sup>+</sup> we krwi obwodowej przed i po leczeniu. Odsetek mieloblastów PHD-2 dodatnich był istotnie wyższy we krwi obwodowej niż w szpiku kostnym u chorych, którzy uzyskali CR oraz u tych, którzy przeżyli. Doktorantka wykazała, że odsetek komórek HIF-2 dodatnich we krwi obwodowej w 48 godzin od rozpoczęcia leczenia jest proporcjonalny do przedwczesnego zgonu. Retrospektywnie wykazano dodatnią korelację między odsetkiem blastów HIF-2 dodatnich a odsetkiem komórek PHD-3 dodatnich w szpiku chorych przed rozpoczęciem leczenia, którzy uzyskali CR po leczeniu indukującym. Korelacja ta była jeszcze wyraźniejsza w grupie chorych żyjących. Wysoki odsetek komórek PHD-3 dodatnich oceniany po leczeniu jest dobrym czynnikiem prognostycznym co do przeżycia całkowitego. Wysoki odsetek komórek HIF-1, HIF-2 i PHD dodatnich wiąże się z gorszym przeżyciem.

Mgr Donata Szymczak wyciągnęła na podstawie przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników następujące wnioski:

po pierwsze: Obecność HIF-1 alfa i HIF-2 alfa w blastach w ostrej białaczce szpikowej, niezależnie od innych czynników rokowniczych, świadczy o proleukomogennym charakterze tych białek, co przekłada się na przeżycie całkowite chorych z wysokimi odsetkami komórek HIF-1 alfa dodatnich i HIF-2 alfa dodatnich we krwi obwodowej;

po drugie HIF-2 alfa ma niekorzystne znaczenie rokownicze w ostrej białaczce szpikowej u ludzi

po trzecie- Obecność PDH-2 w blastach AML może mieć korzystne znaczenie prognostyczne, a niedobór PDH-2 w blastach AML w szpiku kostnym może potwierdzać ich prymitywny charakter

po czwarte- Obecność PDH-3 w blastach AML, która koreluje dodatnio z obecnością HIF-2 alfa u chorych, którzy osiągają CR, może świadczyć o hamującym wpływie PHD-3 na pronowotworowe działanie HIF-2 alfa.

Po piąte- Biorąc pod uwagę wpływ HIF-2 alfa na przebieg AML, inhibitory tego białka mogą być uzupełnieniem leczenia przeciwbiałaczkowego, poprawiającym rokowanie w tej chorobie.

Autorka użyła odpowiednich metod statystycznych. Praca liczy 67 stron. Wyniki pracy zostały przedstawione na 14 rycinach, 16 wykresach i w 7 tabelach. Układ jest typowy dla tego rodzaju pracy. Literatura liczy 82 pozycje prac anglojęzycznych z uwzględnieniem prac najnowszych. Dobór literatury jest właściwy. Na uwagę zasługuje wstęp, w którym doktorantka przedstawia współczesną wiedzę o czynnikach indukowanych hipoksją, w tym o ich roli w guzach litych i ostrej białacze szpikowej. Tę część pracy uzupełnia pięć czytelnych rycin. W części omawiającej wyniki mgr Donata Szymczak wykazuje znakomitą wiedzę dotyczącą omawianych zagadnień. Praca napisana jest poprawnie pod względem stylistycznym.

Na podkreślenie zasługuje znakomite opanowanie warsztatu badawczego przez autorkę.

Doktorantka uzyskała odpowiedzi na postawione pytania a zostały one zawarte we wnioskach przedstawionych powyżej. Na podkreślenie zasługuje oryginalne spostrzeżenie autorki, że wzrastający odsetek komórek HIF-2 alfa dodatnich, po rozpoczęciu chemioterapii, u osób które nie uzyskały remisji, może być odzwierciedleniem selekcji komórek nowotworowych opornych na leczenie, czyli klonu HIF-2 alfa dodatnich.

Nasuwa się uwaga dotycząca wniosku piątego. Nie wyływa on bezpośrednio z przeprowadzonych badań i należałoby umieścić go w części omawiającej uzyskane wyniki. Jest to jednak bardzo ważna myśl, która powinna skłonić do dalszych badań nad inhibitorem HIF-2 alfa. Stwierdzenie mgr Donaty Szymczak zawarte we wniosku piątym zasługuje wobec tego na uwagę i świadczy o tym, że autorka prowadziła badania, które mogą w przyszłości wpłynąć na poprawę wyników leczenia AML.

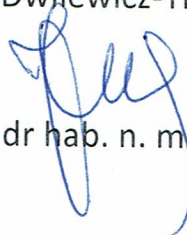
Pracę mgr Donaty Szymczak oceniam bardzo wysoko.

Wnoszę do Wysokiej Rady Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Donaty Szymczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Donaty Szymczak. Walory tej pracy oceniam wysoko. Doktorantka udowodniła znaczenie prognostyczne nowych czynników, które mogą mieć wpływ na dobór leczenia chorych na ostrą białaczkę szpikową i przyczynić się do poprawy wyników terapii. Praca ma znaczenie nie tylko dla nauk podstawowych ale także może mieć znaczenie praktyczne.

Warszawa. 6. 12. 2017

Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek



Prof. dr hab. n. med.