Recenzja

rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarza medycyny Małgorzaty Bernatowicz pt. „Ocena subpopulacji limfocytów T oraz wybranych punktów kontrolnych układu odpornościowego u chorych na ostrą białaczkę szpikową".

Ostra białaczka szpikowa (acute myeloid leukemia, AML) jest chorobą niezwykle heterogenną powstającą w wyniku transformacji nowotworowej macierzystej komórki krwiotwórczej. Zachorowalność na ostre białaczki to około 4 przypadków na 100 000 mieszkańców na rok. Mediana wieku zachorowania jest na szacowana 67 rok życia. Rozpoznanie AML stawia się na podstawie stwierdzenia co najmniej 20% mieloblastów lub ich ekwiwalentów (monoblastów, promonocytów, megakarioblastów) we krwi obwodowej lub szpiku kostnym. Obecność zaburzeń cytogenetycznych takich jak: t(15;17), t(8;12), inv(16) upoważnia do rozpoznania AML bez względu na odsetek blastów w szpiku kostnym. Leczenie AML uzależnione jest od kwalifikacji pacjenta do leczenia intensywnego (tzw. chorzy „fit") lub do leczenia nieintensywnego (tzw. chorzy unfit). W ostatnich latach dostęp do coraz bardziej zaawansowanych technik genetycznych przełożył się na lepsze scharakteryzowanie AML i możliwość zastosowania terapii celowanej lub dopasowanej do grup ryzyka cytogenetyczno-molekularnego. Na rozwój białaczki jak i odpowiedź na leczenie istotny wpływ ma środowisko komórek białaczkowych min. interakcje z układem odpornościowym. Immunologiczne punkty kontrolne są powierzchniowymi białkami biorącymi udział w aktywacji lub regulacji odpowiedzi adaptacyjnej układu odpornościowego zachodzącej w trakcie procesu prezentacji antygenu. Cząsteczki te ulegają ekspresji zarówno na wyspecjalizowanych komórkach prezentujących antygen jak i na limfocytach T. Ich główną rolą jest zapewnienie równowagi sygnałów pobudzających i hamujących aktywność układu odporności swoistej. Szlaki te mają kluczowe znaczenie zarówno w zakresie indukcji odporności protekcyjnej, jak i tolerancji na antygeny własne i obce, czyli tworzeniu immunotolerancji.

Lekarz medycyny Małgorzata Bernatowicz w swojej rozprawie doktorskiej zajęła się oceną subpopulacji limfocytów T oraz wybranych punktów kontrolnych układu odpornościowego u pacjentów chorych na AML.

Do analizy włączyła 72 chorych na AML, a materiał (krew obwodową) pobierano od pacjentów w momencie rozpoznania choroby. Doktorantka prowadziła oznaczenia stężenia i aktywności punktów kontrolnych układu immunologicznego (PD-L1, CTLA-4, PD-1, B7-H3) w obrębie limfocytów T i blastów. Ponadto, badała in vitro, w hodowlach komórek jednojądrzastych izolowanych z krwi obwodowej od 16 chorych aktywność punktów kontrolnych układu immunologicznego w obecności lub bez cytostatyków i inhibitorów punktów kontroli immunologicznej.

Doktorantka przyjęła następujące cele swojej pracy: określenie znaczenia predykcyjnego wybranych subpopulacji limfocytów T u pacjentów z AML (w szczególności różnych poziomów ekspresji PD-1, PDL-1, CTLA-4 oraz B7-H3 na powierzchni limfocytów T CD3+CD4+ oraz oceny odsetkowej tych limfocytów) poddanych standardowej chemioterapii indukującej remisję; określenie znaczenia predykcyjnego ekspresji PD-1, PD-L1, CTLA-4 oraz B7-H3 na powierzchni mieloblastów CD33+ oraz ilości bezwzględnej tych komórek u pacjentów z AML poddanych standardowej chemioterapii indukującej remisję; ocenę dystrybucji uzyskanych wyników badań immunologicznych w grupach ryzyka cytogenetyczno-molekularnego; ocenę żywotności oraz proliferacji blastów pacjentów z AML w odpowiedzi na blokowanie immunologicznych punktów kontrolnych z/bez dodatku chemioterapeutyku – cytarabiny; ocenę żywotności, proliferacji, zmian statusu aktywacyjnego limfocytów T w odpowiedzi na blokowanie immunologicznych punktów kontrolnych z/bez dodatku chemioterapeutyku.

Wybrany przez Doktorantkę temat pracy należy uznać za aktualny i w pełni uzasadniony.

Przedstawiona do recenzji praca liczy 123 stron. Pracę uzupełniają zamieszczony na początku spis użytych w tekście skrótów, spis treści oraz umieszczone na końcu: spis tabel i rycin, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz 285 pozycji piśmiennictwa. W opracowaniu umieszczono 22 ryciny i 17 tabel. Praca napisana jest poprawną polszczyzną, pod względem edytorskim jest wykonana staranie, jednak Autorka nie ustrzegła się pojedynczych błędów literowych i stylistycznych. Na pochwałę zasługuje fakt, że praca napisana jasnym, precyzyjnym językiem.

We wstępie Autorka w wyczerpujący i jasny sposób niezwykle rzetelny przedstawiła aktualny stan wiedzy w zakresie wybranego przez siebie tematu. Tekst wstępu jest uzupełniony o 12 tabel i 1 rycinę co ułatwia czytelnikowi zrozumienie zagadnienia. Swobodny sposób poruszania się w obszarze tego trudnego zagadnienia dowodzi dojrzałości naukowej Autorki. Niemniej Autorka nie uniknęła pewnych nieścisłości, w tabeli 9 nie uwzględniła jednej zmiennej stratyfikującej grupy ryzyka, co zostało bezpośrednio wskazane Doktorantce.

Cele pracy zostały jasno sprecyzowane. W badaniu wzięło udział 72 chorych na AML, leczonych w Klinice Hematologii i Chorób Naczyń UM w Białymstoku. Materiał w postaci krwi obwodowej był pobrany od pacjentów z nowo zdiagnozowaną AML przed rozpoczęciem leczenia. Wykorzystując technikę wielokolorowej cytometrii przepływowej, określano poziom ekspresji (MFI) wybranych punktów kontroli immunologicznej – PD-1, PD-L1, CTLA-4, B7-H3 – na limfocytach T CD3+CD4+ i blastach CD33+ oraz odsetek limfocytów T CD3+CD4+ i ilość bezwzględną blastów CD33 + z ekspresją badanych białek. W hodowlach komórkowych *in vitro* od 16 pacjentów prowadzono ocenę zmian żywotności, proliferacji blastów i limfocytów oraz zmian statusu aktywacyjnego limfocytów w obecności lub bez cytarabiny oraz wybranych inhibitorów punktów kontroli immunologicznej.

Opisana w sposób przejrzysty metodyka badania nie budzi zastrzeżeń. Autorka szczegółowo opisuje techniki laboratoryjne przeprowadzonych badań. Metody statystyczne wykorzystane w analizie zebranego materiału zostały dobrane prawidłowo i nie budzą zastrzeżeń.

Wyniki przedstawiono w sposób jasny i klarowny w odpowiednim rozdziale. Tabele i wykresy dodatkowo porządkują uzyskane wyniki ułatwiając lekturę pracy czytającemu. Wnioski płynące z wykonanego przez Autorkę badania zostały sformułowane 8 punktach, odnoszących się do zagadnień zawartych w celach pracy. Niemniej wnioski w dużej mierze są powtórzeniem wyników i mojej ocenie niektóre z nich wymagają ponownego sformułowania po powtórnej analizie problemu badawczego. Oczywiście, uwagi te mają charakter wyłącznie techniczny i nie pomniejszają mojej pozytywnej oceny pracy.

Ocena końcowa

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lekarz Małgorzaty Bernatowicz stanowi oryginalne osiągnięcie naukowe. Starannie przemyślana, a następnie konsekwentnie zrealizowana koncepcja pracy, opartej na nowoczesnych technikach laboratoryjnych, pozwoliła na obiektywną i krytyczną ocenę postawionego problemu badawczego. Praca świadczy o dużej biegłości Autorki w poruszaniu się w skomplikowanej i pełnej wzajemnych zależności tematyce immunologicznej w odniesieniu do AML. Autorka dowiodła znajomości aktualnych trendów rozwoju wielu dziedzin medycyny w piśmiennictwie światowym. Umiejętność krytycznej dyskusji otrzymanych wyników świadczy o dojrzałości naukowej Autorki.

Rozprawa doktorska lekarz medycyny Małgorzaty Bernatowicz spełnia ustawowe i zwyczajowe warunki dla pracy na stopień naukowy doktora nauk medycznych. Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białystoku pozytywną recenzję pracy i wnoszę o dopuszczenie lek. Małgorzaty Bernatowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, ze względu na takie walory rozprawy jak: aktualność zagadnień, waga kliniczna problemu oraz wzorowe przedstawienie wyników pracy i dyskusji zwracam się do Wysokiej Rady z prośbą o wyróżnienie rozprawy.

03.06.2022 Agnieszka Pluta

Dr hab. n. med. Agnieszka Pluta
Hematolog
specjalista chorób wewnętrznych
6394192