



POLSKIE TOWARZYSTWO
HEMATOLOGÓW
I TRANSFUZJOLOGÓW

Jagiellonian University Medical College; Plasma Cell Dyscrasias Center at the Department of Hematology;
Kraków Branch Polish Society of Hematology and Blood Transfusion; The Myeloma Treatment Foundation Centre;
31-501 Kraków, Kopernika 17 str.; Poland; tel +48601539077 www.szpiczak.org



RPW/2046/2023
Data: 2023-03-13
UMB

Kraków, dnia 6 marca 2023 roku

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Klaudii Cieśluk zatytułowanej:
„Ocena profilu metabolomicznego u chorych na dyskracje plazmocytowe”**

Szpiczak plazmocytowy (ang. multiple myeloma, MM) jest złośliwym nowotworem hematologicznym wywodzącym się ze zróżnicowanych komórek B. Stanowi 1-2% wszystkich nowotworów i około 10-15% nowotworów hematologicznych. Ostatnie dekady przyniosły znaczący postęp w leczeniu MM – do praktyki klinicznej włączono leki immunomodulujące jak talidomid (oraz jego nowsze pochodne lenalidomid, pomalidomid, iberdomid), inhibitory proteasomów (bortezomib, carfilzomib), przeciwciała monoklonalne (daratumumab, elotuzumab), limfocyty T z chimerycznym receptorem antygenowym skierowanym przeciwko BCMA (B-cell Maturation Antigen) oraz coraz przeciwciała bispecyficzne skierowane przeciwko antygenom CD3 oraz BCMA (teclistamab, talquetamab, elotuzumab). Pomimo znaczącego postępu metod diagnostycznych oraz leczniczych szpiczak plazmocytowy wciąż pozostaje chorobą nieuleczalną.

Jednym z kierunków poszukiwania poprawy przeżywalności w MM jest wcześniejsze włączenie leczenia przeciwnowotworowego u pacjentów w stanie przed pełnoobjawową MM, jak np. MGUS (gammapatia monoklonalna o niezdefiniowanym znaczeniu, ang.

monoclonal gammopathy of unknown significance). Jednakże, pojawia się tutaj typowy problem nadmiernego leczenia (ang. over treatment). Stąd też tak pożądanym jest poszukiwanie nowych biomarkerów pozwalających na selektywne włączanie terapii tylko u tych pacjentów z MGUS, których choroba transformuje do MM z największym prawdopodobieństwem. Wyjście poza znane strategie selekcji pacjentów oparte o cechy kliniczne oraz badania laboratoryjne w kierunku metod *omicznych* niewątpliwie stanowi właściwy kierunek poszukiwania swoistych biomarkerów transformacji MGUS do MM.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w formie pracy monograficznej. Składa się z 96 stron, 7 rycin oraz 36 tabel z klasycznym podziałem pracy na wstęp, metodologię, wyniki, dyskusję oraz wnioski. W bibliografii znajduje się 95 pozycji przywołujących zarówno wytyczne, prace pogładowe oraz oryginalne, z czego te ostatnie w znaczącym stopniu dominują. Przedstawiono w rozprawie doktorskiej wyniki nie zostały do tej pory opublikowane. Promotorem pracy doktorskiej jest kierownik Kliniki Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Pan dr hab. n. med. Jarosław Piszcz. W przygotowaniu wyników do przedłożonej, interdyscyplinarnej pracy był pan dr hab. Michał Ciborowski oraz pani doktor Karolina Pietrowska afiliowani w Centrum Badań Klinicznych Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Eksperymenty prowadzone z wykorzystaniem materiału biologicznego pacjentów zostały przeprowadzone w ramach pozytywnej opinii komisji bioetycznej nr R-I-002/611/2018. Prace zostały sfinansowane z środków statutowych Uczelni.

Wstęp podzielono na 8 podrozdziałów. Na 16-stu stronach autorka pracy wprowadza kluczowe pojęcia, definiuje jednostkę chorobową umieszczając szpiczaka mnogiego (oraz jego podtypy) w zasadniczej grupie dyskrazji plazmocytowych.

Doktorantka w zwięzły sposób wprowadza czytelnika do zasadniczego problemu badawczego tj. rozróżniania stadiów ewolucyjnych szpiczaka. Przedstawione w formie tabel oraz rycin kryteria rozpoznania (i rozróżniania) poszczególnych stadiów MM nie tylko ułatwiają czytelnikowi odbiór, ale przede wszystkim tworzą kontekst dla podjętego problemu badawczego. W ostatnim podrozdziale wstępu doktorantka przedstawia metabolomikę, czyli główne narzędzie badawcze użyte do przygotowania niniejszej



dysertacji. Podrozdział zawiera zarówno informacje ogólne pozwalające odnaleźć metabolomikę pośród innych metod „omicznych”, zasadnicze podejścia eksperymentalne z wykorzystaniem tej metody, a posługując się przykładami – znaczenie *omicznych* oznaczeń metabolitów w innych jednostkach chorobowych.

Wstęp poza sporadycznymi błędami edytorskimi (np. brak odstępu pomiędzy rokiem kalendarzowym a skrótem literowym r.) jest prawidłowo napisany, składa się z 41 odnośników literaturowych i we właściwy sposób wprowadza czytelnika do tematyki pracy.

Cel badania został jasno i zwięźle wyrażony, choć mógłby zawierać dodatkowe uzasadnienie wyboru celu klinicznego oraz metodologii (np. dlaczego akurat metabolomika, a nie transkryptomika).

Badaniem objęto 100 pacjentów Kliniki Hematologii Szpitala Uniwersyteckiego w Białymstoku, w tym 50 pacjentów ze zdiagnozowanym MM oraz 30 z MGUS. Dwudziestu pacjentów stanowiło grupę kontrolną. Przedstawiono ogólną charakterystykę populacji z podziałem na płeć. W kolejnym podrozdziale metodologii opisano sposób pozyskiwania, preparatyki i zabezpieczenia materiału biologicznego (osocze). Opisano również sposób wykonywania oznaczeń przy użyciu spektrometrii mas (jonizacja przez elektrorozpylanie) sprzęgniętej z wysokosprawną chromatografią cieczową. Część metodologiczna, szczególnie w odniesieniu do kryteriów włączenia oraz charakterystyki populacji jest wystarczająco opisana, choć mogłaby zostać przedstawiono w rozdziale dotyczącym metodologii (w metodologii należałoby oczekiwać jasno wyrażonego kryterium np. odnośnika do kryteriów MGUS opracowanych przez International Myeloma Working Group w 2014 roku).

Wyniki zaprezentowano w formie 24 tabel oraz 3 rycin, które pomagają zrozumieć sposób uzyskiwania wyników przedstawionych dalej w tabelach. Sposób prezentacji rezultatów pracy może przytłaczać mnogością stabelaryzowanych danych, jednakże wynika wprost z otrzymanych wyników – doktorantka w kolejnych podrozdziałach prezentuje różnice w poziomach poszczególnych grup metabolitów w grupach klinicznych porównywanych parami (kontrola vs MGUS, kontrola vs MM, MGUS vs MM). Znalaziono różnice w

poziomach 7 grup związków (karnityny, sfingomieliny, fosfatydylocholiny, lizofosfatydylocholiny, fosfatydyloetanolaminy, lizofosfatydyloetanolaminy, lizofosfatydyloinozytole) oraz 6 metabolitów (bilirubina, benzotiazolein, piperyna, kwas arachidonowy, kwas karboksy-metylo-propylofuranopropanowy, kwas eikozapentaenowy). Przedstawione wyniki wypełniają cel niniejszej dysertacji, tj. poszukiwanie cech metabolicznych różniących osocze pacjentów przynależnych do 3 grup klinicznych (kontrola, MGUS, MM).

W następnym rozdziale doktorantka podejmuje dyskusję otrzymanych wyników. Rozdział utrzymany jest w analogicznej do wyników konwencji tj. z podziałem na grupy metabolitów. Doktorantka odnosi swoje wyniki od licznych opublikowanych prac naukowych przytaczając przykłady podobnych odkryć w innych jednostkach chorobowych. Z nielicznymi wyjątkami (np. brak odniesienia do otrzymanych wyników dla LPI), dyskusja jest wystarczająca, a co najważniejsze w przypadku tak licznych danych – pozwala na prawdopodobną interpretację otrzymanych wyników. Zwieńczeniem pracy jest opis ograniczeń dysertacji oraz wnioski.

We wnioskach z pracy zawarto główne osiągnięcia (wykryto różnice w poziomach karnityn oraz fosfatydyloamin pomiędzy grupami MGUS i MM, spadek poziomu kwasu arachidonowego w grupach MGUS i MM, różnice pomiędzy MGUS i MM w zakresie sfingomielin, fosfatydylocholin, PC i LPE). Ponadto, we wnioskach podkreślono znaczenie odkryć dla wcześniejszego wykrycia transformacji MGUS do MM, co może pozwolić na uzyskanie lepszych wyników leczenia szpiczaka. Tym samym, osiągnięto postawiony pracy cel, jednocześnie dostarczając wartościowych wyników o znaczeniu klinicznym.

Z recenzenckiego obowiązku przedstawiam następujące sugestie oraz uwagi krytyczne:

- (1) w przedłożonej pracy brakuje graficznego streszczenia uzyskanych wyników. Ułatwiłoby to czytelnikowi odbiór efektów pracy,
- (2) część dyskusji opisuje znaczenie metabolitów, ale w niewielkim stopniu odnosi się do uzyskanych wyników np. LPI i LPE. Wyników własnych nie odniesiono również do opublikowanych prac charakteryzujących poziomy kwasów tłuszczowych u pacjentów z



MM (np. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25666255/> lub <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25192858/>),

(3) w pracy skupiono uwagę na ewolucji MGUS do MM i to tym dwóm stanom klinicznym odpowiada analiza biochemiczna – czy według doktorantki otrzymane wyniki znacząco różniłyby się, jeśli do analizy materiału klinicznego włączono by pacjentów ze szpiczakiem tłącym lub niewydzielającym (szczególnie wyniki odnoszące się do różnic statystycznych pomiędzy MGUS vs MM)?

(4) oznaczenia biochemiczne wykonano w metabolitach osocza – w jaki sposób metabolom oznaczany w osoczu może korespondować z metabolomem samych plazmocytów?

Wyżej wymienione uwagi nie umniejszają jakości oraz znaczeniu przedłożonej rozprawy doktorskiej. Należy podkreślić, że użyta w pracy metodologia oraz interdyscyplinarny charakter pracy stanowią kwintesencję współczesnej hematologii klinicznej. Dysertacja podejmuje istotny klinicznie problem jakim jest wychwycenie pacjentów z MGUS, którzy transformują do MM. Poszukiwanie nowych biomarkerów jest pracą żmudną, ale niezwykle pożądaną. Co więcej, uzyskane wyniki mogą się przyczynić do wyznaczenia nowych, metabolicznych celów terapeutycznych. Należy również podkreślić, że przedłożona dysertacja jest napisana starannie, o czym świadczy znikoma liczba błędów edytorskich. W tym miejscu chciałbym podkreślić ogrom wysiłków włożony przez doktorantkę oraz zespół badawczy w zebranie materiału biologicznego, wykonanie trudnych metodologicznie eksperymentów i jeszcze trudniejszą analizę danych.

Niniejszym stwierdzam, iż przedłożona do mojej oceny rozprawa doktorska lek. Klaudii Cieśluk wypełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 z dn. 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.).

Klochaw
6.03.2023r.

prof. dr. hab. n. med. ARTUR JURCZYŹYŹYN
specjalista chorób wewnętrznych
specjalista hematolog
980613909 8621825