Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Department of Haematooncology and Bone Marrow Transplantation
Medical University of Lublin
Kierownik: dr hab. n. med. Marek Hus
ul. Staszica 11, 20-081 Lublin

Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku UM w Lublinie

Lublin, 10.08. 2018 r.

dr hab. n. med. Marek Hus
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku

Ocena rozprawy doktorskiej **mgr Wioletty Romaniuk**
pt. „Ocena przydatności oznaczenia proteasomów w monitorowaniu leczenia chorych na szpiczaka plazmocytowego"
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Janusza Kłoczko.

Rozprawa doktorska mgr Wioletty Romaniuk oparta jest na wynikach badań, które w latach 2015 – 2018, Autorka opublikowała w trzech recenzowanych czasopismach medycznych. Cykl prac otwiera praca poglądowa pt. Inhibitory proteasomów w terapii onkologicznej" zamieszczona w czasopiśmie "Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej" (IF-0.769) w 2015 roku.
Kolejne dwie publikacje to prace oryginalne opublikowane w języku angielskim. Pierwsza pt." Proteasome 20S in Multiple Myeloma: comparison of concentration and chymotrypsin-like activity in plasma and serum" opublikowana w 2018 w Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation (IF- 1.446). Druga, pt. High chymotrypsin-like activity in the plasma of patient with newly diagnosed multiple myeloma treated with bortezomib is predictive of a better response and longer PFS opublikowana została w 2018 roku w Annals of Hematology (IF-3.083)

Szpiczak plazmocytowy jest przewlekła chorobą nowotworową charakteryzująca się klonalnym rozrostem nowotworowych plazmocytów, produkujących patologiczne białko monoklonalne o strukturze immunoglobulin lub jej fragmentów. Choroba ma charakter cywilizacyjny i występuje najczęściej u osób starszych, a chorzy w wieku poniżej 60 lat stanowią około 30%. Mimo niewątpliwych postępów w leczeniu szpiczaka plazmocytowego, wydłużenie przeżycia wolnego od choroby i przeżycia całkowitego choroba pozostaje nadal nieuleczalna. W ostatnich latach dokonał się istotny postęp w leczeniu szpiczaka plazmocytowego. Dzięki nowym terapiom opartym na lekach immunomodulacyjnych (talidomid, lenalidomid, pomalidomid) i inhibitorach proteasomu (bortezomib, karfilzomib, ikasazomib), inhibitorach deacetylazy i przeciwciałach monoklonalnych oraz przeszczepieniu auto i allogenicznych komórek macierzystych możliwe jest wydłużenie przeżycia wolnego od progresji choroby do kilku lat a całkowitego przeżycia nawet do kilkunastu lat. Ze względu na przewlekły i nawrotowy charakter szpiczaka plazmocytowego obecnie coraz większym wyzwaniem jest leczenie chorych wykazujących oporność na leki immunomodulacyjne i inhibitory proteasomu. Wybór terapii w takich przypadkach powinien uwzględniać nie tylko skuteczność stosowanych leków ale także stan ogólny pacjenta czy też jego oczekiwania. Skuteczność stosowania inhibitorów proteasomu w leczeniu szpiczaka spowodowała, że wielu naukowców ogniskuje swoje zainteresowania badawcze na procesach ubikwitynizacji i aktywności proteasomów w zarzadzaniu kontrolą nad degradacją defektywnych białek wewnątrz komórki. Dzisiaj wiemy, że komórki nowotworowe są bardzo niestabilne genetycznie i syntetyzują duże ilości nieprawidłowych białek, co szczególnie czyni je podatne na procesy hamowania proteasomu w porównaniu do komórek prawidłowych. Wysoka aktywność i stężenie proteasomu w komórkach plazmatycznych dowodzi, że odgrywają one znaczącą rolę w ewolucji klonalnej szpiczaka plazmocytowego. Opublikowane wyniki wielu badań wskazują, że ocena parametrów proteasomu może korelować ze stadium choroby oraz może być wykorzystane do prognozowania i monitorowania leczenia, dając szansę na personalizowanie postępowania terapeutycznego, szczególnie w nawrotach choroby.

Biorąc pod uwagę te fakty należy uznać, że temat badań wybranych przez Doktorantkę jest bardzo aktualny i może przyczynić się do dalszego poszerzenia wiedzy na temat szpiczaka plazmocytowego oraz sposobów leczenia.

Recenzowana rozprawa zawiera **streszczenie** w języku polskim i angielskim. Rozdział ten obejmuje niezbędną charakterystykę dotyczącą założeń badawczych podejmowanych w pracy, uzyskanych wyników oraz ich interpretacji w odniesieniu do uwarunkowań klinicznych. Rozdział, choć umieszczony na końcu dysertacji, umożliwia szybkie zorientowanie się w zakresie pracy badawczej oraz celowości podjęcia opisanych i opublikowanych badań.

Wstęp rozprawy jest bardzo szczegółowym i obszernym opisem aktualnej wiedzy, obejmującym szpiczaka plazmocytowego - objawy kliniczne i fazy choroby. Autorka wyczerpująco opisuje postępowanie diagnostyczne oraz znane obecnie czynniki rokownicze, kwalifikujące chorych do rozpoczęcia terapii.

W rozdziale tym dość szczegółowo opisane zostały metody leczenia oraz metody oceny efektów terapii. Począwszy od zastosowania melfalanu z talidomidem i prednizonem u pacjentów w podeszłym wieku lub tzw. kruchych chorych nie kwalifikujących się do wysokodawkowej chemioterapii i przeszczepienia komórkami macierzystymi. Dalej, Autorka odnosi się do terapii opartych na połaczeniach najnowszych leków o różnym mechanizmie działania uwzględniając inhibitory proteasomu: iksazomib, karfilzomib, nowe leki immunomodulujące jak lenalidomid, pomalidomid czy nowe przeciwciał monoklonalnych takie jak daratumumab, W końcu opisuje budowę i funkcję systemów proteolitycznych komórki ze szczegółowym opisem roli i funkcji proteaomu.

Umiejętność wiązania informacji z różnych dziedzin biologii z obserwacjami klinicznymi jest cennym atrybutem wskazującym na szeroką wiedzę z odpowiednim łączeniem faktów przez Doktorantkę. Uważam, że wstęp rozprawy, zawierający się w pracy poglądowej pt. Inhibitory proteasomów w terapii onkologicznej" Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2015;69: 1443-1450 wyczerpująco wprowadza w problematykę podjętą w badaniach.

W celu pracy Autorka prezentuje poprawnie formułowane hipotezy badawcze, wyróżniając trzy problemy badawcze, których rozwiązanie pozwoli w założeniu Autorki, uzyskać precyzyjną odpowiedź na stawianą tezę.

Postawiony cel pracy obejmuje zróżnicowane, lecz spójne zagadnienia. Wskazuje to na dobre, wielopłaszczyznowe zorientowanie Doktorantki w zakresie

zaplanowanych badań i jest odpowiednim punktem wyjścia do przeprowadzenia eksperymentów oraz zaprojektowanej analizy danych klinicznych z wynikami przeprowadzonych badań naukowych.

Postawione hipotezy badawcze są ciekawe, a ich analiza może po dalszych dogłębnych badaniach stanowić wartość o charakterze klinicznym.

Materiał i metody zostały opisane z dbałością o szczegóły. Opis procedur badawczych umieszczony w obu pracach oryginalnych jest klarowny. Metodyka, na której oparto część badawczą pracy jest dobrana adekwatnie do realizacji założonych celów pracy. W rozdziale tym, Autorka umieściła zestawienie badań wykonywanych w trakcie realizacji poszczególnych eksperymentów. Szczegółowo zastała opisana metodyka oznaczania aktywności chymotrypsynopodobej proteasomu, oznaczanie stężenia proteasomu w osoczu i surowicy metoda immunoenzymatyczną oraz stężenia białka całkowitego metodą Bradforda.

Wnioski zostały zebrane i zaprezentowane w 3 punktach. Oparte są one w pełni na uzyskanych wynikach wskazując, które z nich stanowią najistotniejsze osiągnięcia pracy badawczej składającej się na rozprawę doktorską. Wykonane podsumowanie jest zwięzłe zawierające ogólne spostrzeżenia jak również sugestie Autorki dotyczące potencjalnej możliwości praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników w diagnostyce i terapii celowanej chorych na szpiczaka plazmocytowego.

Dyskusja stanowi bardzo obszerny fragment ocenianej rozprawy i została przeprowadzona w sposób rzeczowy zarówno w oparciu o własną wiedzę jak i informacje pochodzące z najnowszej światowej literatury, co świadczy o dojrzałości badawczej Doktorantki oraz wysoce merytorycznej opiece Promotora. Całość badań z odnosząca się do nich dyskusją zebrana jest w dwóch opublikowanych pracach naukowych, o istotnym współczynniku wpływu (4.529 dla obu prac). W mojej ocenie Doktorantka w sposób przemyślany łączy fakty i konsekwentnie stara się interpretować uzyskane wyniki mając na uwadze postawione hipotezy badawcze. Na uwagę zasługuje wykonana przez Autorkę interpretacja uzyskanych wyników, ich trafne wytłumaczenie oraz przeprowadzenie nieschematycznych podsumowań.

Podsumowując, stwierdzam, że Doktorantka w pełni wypełniła zadania, jakie zostały postawione w celu pracy. Istotnym osiągnięciem ocenianej dysertacji jest również umiejętność wykazania się przez Autorkę zawodową pokora, wobec różnorodności obserwowanych zdarzeń klinicznych, konfrontowanych z dobrą praktyką medyczna. Poprzez swą nietypowość nie mogą one być objęte analizą statystyczną a wymagają równie nietypowych, indywidualnych decyzji klinicznych w odniesieniu do trudnej diagnostyki i terapii szpiczaka plazmocytowego. Doktorantka wykazała bardzo dobre zorientowanie w aktualnych doniesieniach literatury światowej dotyczącej zaplanowanych badań. Interpretacja wyników jest odpowiednia jak również na uznanie zasługuje umiejętność powściągliwego i odpowiedzialnego wyprowadzenia wniosków. Wartość pracy i uzyskanych wyników badań Doktorantki, potwierdzona została akceptacją międzynarodowego środowiska naukowego i ich publikacją w renomowanych czasopismach o wysokim współczynniku wpływu.

Rozprawa doktorska mgr Wioletty Romaniuk jest opracowaniem spełniającym wszystkie warunki wymagane odpowiednią ustawą - art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. (Dz.U.2016, poz. 882 z późn.zm.) - dla dysertacji doktorskich. Praca ma charakter poznawczy i niewątpliwie posiada ciekawe implikacje kliniczne. Stanowi również podstawę do dalszych badań laboratoryjnych i klinicznych.

Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pozytywną recenzję i wnoszę o dopuszczenie mgr Wioletty Romaniuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Katedry i Kliniki Hematoonkologii
i Transplantacji Szpiku
dr hab. n. med. Marek Hus