KLINIKA ONKOLOGII I HEMATOLOGII DZIECIĘCEJ
UNIWERSYTET MEDYCZNY w Białymstoku
KIEROWNIK KLINIKI: PROF. ZW.DR HAB. N. MED. MARYNA KRAWCZUK-RYBAK
15-274 BIAŁYSTOK UL. WASZYNGTONA 17 e:mailmaryna.krawczuk-rybak@umb.edu.pl tel/fax (085) 7450846

Białystok dn. 04.05.2022

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lek. med. Wojciecha Strojnego

„Looking for potential markers of late effects of hematopoietic cell transplantation in children"

(„Poszukiwanie potencjalnych wskaźników odległych powikłań przeszczepienia komórek krwiotwórczych u dzieci")

Dokonujący się postęp w terapii chorób nowotworowych dzieci powoduje stały wzrost liczby pacjentów wyleczonych lub pozostających w wieloletnie remisji, którzy osiągają wiek dojrzały. Obecnie ponad 80% dzieci leczonych z powodu nowotworów uzyskuje 5-letnie przeżycie lub zostaje trwale wyleczonych. Jednocześnie wieloośrodkowe badania kliniczne wykazują, iż grupa tzw. ozdrowieńców jest narażona na wystąpienie szeregu groźnych następstw terapii przeciwnowotworowej, w tym kolejnych nowotworów, powikłań narządowych, a także chorób cywilizacyjnych, co z kolei przyczynia się do znacznego pogorszenia jakości życia i skraca czas przeżycia osób wyleczonych. Dlatego wyzwaniem współczesnej onkologii jest nie tylko uzyskanie jak największego odsetka wyleczeń, ale i zapewnienie jak najwyższej jakości życia osób wyleczonych z choroby nowotworowej.

Jedną z metod terapii nowotworów jest zastosowanie megachemioterapii i napromienienie całego ciała z następowym przeszczepieniem komórek

krwiotwórczych (HCT), co przyczyniło się do zwiększenia odsetka pacjentów wyleczonych z choroby. Niestety, to radykalne leczenie powoduje szereg powikłań, które mogą znacząco wpłynąć na stan zdrowia i pogorszyć jakość życia ozdrowieńców. Jednym z takich następstw, zwłaszcza u pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej, jest zwiększenie częstości występowania, chorób o znaczeniu społecznym – nadciśnienia, otyłości i zespołu metabolicznego.

Stąd podjęcie przez lekarza Wojciecha Strojnego oceny wybranych parametrów klinicznych, biochemicznych i genetycznych u dzieci przed i po leczeniu przeciwnowotworowym z przeszczepieniem komórek krwiotwórczych, które to leczenie może mieć potencjalny udział w rozwoju otyłości, nadciśnienia tętniczego i powikłań metabolicznych, uważam za niezwykle trafne i o dużym znaczeniu w poznaniu stopnia zagrożenia rozwoju wymienionych powyżej schorzeń.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska „Looking for potential markers of late effects of hematopoietic cell transplantation in children" składa się z trzech monotematycznych publikacji, w których Doktorant jest pierwszym autorem.

We Wstępie Autor przedstawia aktualny stan wiedzy nt. epidemiologii, znaczenia czynników genetycznych, metabolicznych w rozwoju nadciśnienia tętniczego, otyłości i zespołu metabolicznego w populacji osób dorosłych i u dzieci.

Pierwsza publikacja autorów: Strojny W, Drożdż D, Fijorek K, Korostyński M, Piechota M, Balwierz W, Pietrzyk JA, Kwinta P, Siedlar M, Skoczeń S: **„Looking for new diagnostic tools and biomarkers of hypertension in obese pediatric patients"** opublikowana w Blood Pressure Monitoring w 2017 roku dotyczy ustalenia metodologii badania różnic ekspresji genów związanych z nadciśnieniem tętniczym u dzieci z otyłością i zdrowych (bez otyłości) oraz występowania zespołu metabolicznego w badanej populacji

dzieci. Pomiary ciśnienia tętniczego wykonano metodą klastyczną i w oparciu o całodobowe monitorowanie metodą ABPM. Ekspresję genów związanych z nadciśnieniem tętniczym określono metodą mikromacierzy, w tym poziom transkryptu 12 genów związanych z monogenowymi formami nadciśnienia i 45 wariantów genów związanych z nadciśnieniem tętniczym. U 50% pacjentów otyłych zaobserwowano nadciśnienie tętnicze, a u 29% pacjentów z nadciśnieniem stwierdzono występowanie cech zespołu metabolicznego. Nie wykazano istotnych różnic w ekspresji ocenianych genów związanych z nadciśnieniem w porównywanych grupach pacjentów. We wniosku autorzy podkreślili użyteczność metody ABPM w wykrywaniu nadciśnienia tętniczego, a także wskazali, że analiza mikromacierzy może być wykorzystana w badaniu cech genetycznych związanych z nadciśnieniem tętniczym.

Kolejna publikacja z udziałem Doktoranta: **„Comparison of blood pressure values and expression of genes associated with hypertension in children before and after hematopoietic cell transplantation"** autorów: Strojny W, Kwiecińska K, Fijorek K, Korostyński M, Piechota M, Balwierz W, Skoczeń S, opublikowana w Scientific Reports w 2021r dotyczy oceny ciśnienia tętniczego i ekspresji genów związanych z nadciśnieniem tętniczym u dzieci przed i po 6 miesiącach po HCT, w odniesieniu do dzieci z otyłością prostą i do dzieci zdrowych. W pracy wykorzystano metody opisane we wcześniejszej publikacji, tj. pomiar 24-godzinny ciśnienia (ABPM) i technikę analizy mikromacierzy dla oceny ekspresji genów związanych z nadciśnieniem tętniczym. Nie zaobserwowano różnic w wartościach ciśnienia tętniczego przed i po HCT, ani też w odniesieniu do dzieci zdrowych. Natomiast w grupie dzieci otyłych wartości ciśnienia były wyższe w porównaniu do pozostałych. Co istotne, autorzy stwierdzili u pacjentów przed i po HCT istotną nadekspresję niektórych genów związanych z nadciśnieniem w porównaniu do pacjentów otyłych. U pacjentów przed HCT, Doktorant zaobserwował niższą ekspresję genów *AGTR2, BLK, FLJ32810, TMEM1 33* i wyższą ekspresję genów *MOV10 i WNK1* w porównaniu do grupy dzieci z otyłością, zaś po

HCT- dodatkowo, w porównaniu do dzieci z otyłością – niższą ekspresję genu *NR3C2* i wyższą ekspresję genów *BAT2D1 i PIK3CG*. Podsumowując Doktorant wskazuje na brak różnic w ciśnieniu tętniczym przed i krótko po HCT, co nie może być wyznacznikiem dla ewentualnego późniejszego rozwoju nadciśnienia tętniczego. Niemniej jednak nadekspresja niektórych genów związanych z nadciśnieniem uzasadnia konieczność prowadzenia dalszych obserwacji w tym kierunku. Autor podkreśla, że ta obserwacja ma charakter nowatorski i może stanowi podstawę dla dalszych badań genetycznych z zastosowaniem techniki mikromacierzy, jako wskaźników późniejszego rozwoju nadciśnienia u pacjentów po HCT.

Trzecia publikacja autorów; Strojny W, Czogala W,Tomasik P, Bik-Multanowski M, Wójcik M, Miklusiak K, Hałobiec P, Skoczeń S, zatytułowana **„Concentrations of insulin-like-growth factors and insulin-like-growth-factor-binding proteins and respective gene expressions in children before and after hematopoietic stem cell transplantation"** (Nutriens 2021, 13,4333) dotyczy oceny stężenia insulinopodobnych czynników wzrostu i ich białek wiążących oraz ekspresji kodujących je genów w grupach pacjentów przed i po HCT oraz dzieci zdrowych. Poza oceną wskaźników antropometrycznych i stężenia w/w parametrów, dokonano analizy stężenia wielu wskaźników metabolicznych, w tym: glukozy, insuliny, leptyny, rozpuszczalnego receptora leptyny, adiponektyny, apeliny, cholecystokininy, GLP-1, ghreliny, rezystyny, FGF-21, wisfatyny. Oceniono także ekspresję genów kodujących IGF i IGFBP u pacjentów przed i po HCT. Zaobserwowano istotne korelacje pomiędzy stężeniem IGF-1 (ale nie stężeniem IGF-2) i wieloma parametrami antropometrycznymi. Nie stwierdzono różnic w wartościach stężeń IGF-1 i IGF-2 przed i po HCT, ale wartości te były znamiennie niższe w odniesieniu do grupy dzieci zdrowych. Nie wykazano też korelacji pomiędzy stężeniami IGF-1 i IGF-2. Autorzy zauważyli, że przed i po HCT stężenia IGF-1 mieściły się w granicach prawidłowych, natomiast stężenia IGF-2 pozostawały poniżej wartości prawidłowych (w odniesieniu do

danych z piśmiennictwa).Autorzy zaobserwowali wiele korelacji pomiędzy parametrami antropometrycznymi i IGFBP-1 i brak korelacji z innymi białkami wiążącymi IGF, a także parametrami biochemicznymi. Badacze nie wykazali różnic w ekspresji genów kodujących IGF-1, IGF-2, IGFBP-1-7 przed i po HCT. Autorzy konkludują, iż stężenia IGF-1, IGF-2, IGFBP-1-7 nie różnią się istotnie przed i po HCT, natomiast obserwowane są zależności pomiędzy stężeniami IGFs i białkami wiążącymi a wieloma parametrami antropometrycznymi i wskaźnikami biochemicznymi, co pozostaje w zgodzie z znaczeniem w procesach metabolicznych. Autorzy jednak podchodzą do uzyskanych wyników z ostrożnością z uwagi na niewielką liczebność badanej grupy jak i stosunkowo krótki czas obserwacji. Może to wskazywać na małe prawdopodobieństwo wykorzystania stężeń IGFs i białek wiążących i ekspresji genów je kodujących jako potencjalnych wskaźników odległych następstw po HCT u dzieci.

Pracę doktorską kończą cztery wnioski wynikające z omawianego cyklu prac. Podsumowaniem jest wniosek ostatni wskazujący, iż najbardziej przydatnym pod kątem przyszłych badań dotyczącym nad odległymi powikłaniami po HCT u dzieci jest analiza metodą mikromacierzy genów związanych z nadciśnieniem tętniczym.

W posumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska lek Wojciecha Strojnego przygotowana została w sposób przejrzysty, rzeczowy i dobrze zaplanowany. Pierwsza publikacja nie dotyczy pacjentów po leczeniu przeciwnowotworowym, ale stanowi podstawę do prowadzenia kolejnych badań już w populacji dzieci leczonych przeciwnowotworowo. Metody diagnostyczne, w tym techniki mikromacierzy dla oceny ekspresji genów związanych z nadciśnieniem tętniczym oraz szeroki panel badań metabolicznych zostały prawidłowo dobrane i należą do bardzo nowoczesnych. Publikacja badań w czasopismach zasięgu międzynarodowym o wysokim IF i punktacji MNiSW jest najlepszym dowodem na wysoką jakość przedstawionych wyników. Doktorant wykazał się bardzo

dobrą znajomością podjętego tematu, a poczynione przez niego obserwacje mają znaczenie poznawcze i kliniczno-praktyczne i świadczą o umiejętności prowadzenia badań naukowych. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w wiedzę o przyczynach rozwoju powikłań po leczeniu przeciwnowotworowym.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk medycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie lek Wojciecha Strojnego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, z uwagi na bardzo wysoką wartość naukową, najwyższą wśród recenzowanych przeze mnie rozpraw naukowych, wnoszę wyróżnienie rozprawy lek Wojciecha Strojnego.

KIEROWNIK
Kliniki Pediatrii, Onkologii i Hematologii
Maryna Krawczuk-Rybak
prof. zw. dr hab. n. med. Maryna Krawczuk-Rybak