UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU
INSTYTUT PEDIATRII
Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej
Kierownik Kliniki: prof. zw. dr hab. med. JACEK WACHOWIAK
ul. Szpitalna 27/33
60-572 Poznań
tel: 61 849 14 47
fax: 61 847 43 56
e-mail: kohtp@skp.ump.edu.pl

Poznań, 07 września 2022 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. Kingi Kwiecińskiej
pt.: **„Ostra białaczka limfoblastyczna u dzieci w XXI wieku"**
„Acute lymphoblastic leukemia in children in XXI century"

Zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie z dnia 17 maja 2022 r. o powołaniu mnie na recenzenta w przewodzie doktorskim **lek. Kingi Kwiecińskiej** z Kliniki Onkologii i Hematologii Dziecięcej CM UJ mam zaszczyt przedstawić recenzję rozprawy doktorskiej pt. **„Ostra białaczka limfoblastyczna u dzieci w XXI wieku (Acute lymphoblastic leukemia in children in XXI century)"**.

Ostra białaczka limfoblastyczna (ang. *acute lymphoblastic leukemia,* ALL) jest nie tylko najczęstszą białaczką, ale także najczęstszym nowotworem u dzieci i młodzieży, a poprzez to stanowi centralny problem w onkologii dziecięcej.

Na przestrzeni ostatnich kilku dekad dzięki globalnej współpracy onko-hematologów dziecięcych wyniki leczenia ALL u dzieci uległy spektakularnej poprawie z odsetkiem trwałych wyleczeń wynoszącym ogółem ponad 80%. Jednak nadal, chociaż w coraz mniejszym odsetku, u dzieci z ALL występują niepowodzenia leczenia, spośród których najczęstsza jest wznowa białaczki, a na drugim miejscu wczesne i odległe powikłania bardzo intensywnego, kompleksowego i długotrwałego leczenia w dzieciństwie.

Stąd nieustanne dążenie do tego aby leczenie ALL u dzieci było jeszcze bardziej skuteczne, a jednocześnie coraz bardziej bezpieczne, tj. coraz mnie obciążające rozwijający się organizm dziecka.

W XXI wieku do osiągniecia takiego celu przybliżają nas postępy biologii molekularnej dające możliwość identyfikowania u dzieci z ALL defektów genetycznych o znaczeniu rokowniczym i/lub stanowiących potencjalny obiekt do terapii ukierunkowanej i/lub umożliwiających bardzo precyzyjną ocenę odpowiedzi na leczenie w określonych punktach czasowych terapii, a także postępy immunoterapii oraz coraz liczniejsze innowacyjne leki

umożliwiające w coraz szerszym zakresie prowadzenie spersonalizowanej terapii ALL u dzieci i młodzieży.

W ten kierunek rozwoju onko-hematologii dziecięcej, ze szczególnym uwzględnieniem ALL, znakomicie wpisuje się rozprawa doktorska lek. Kingi Kwiecińskiej.

Rozprawę doktorską lek. Kingi Kwiecińskiej stanowi cykl 4 oryginalnych prac opublikowanych w języku angielskim w latach 2018-2022 w recenzowanych medycznych czasopismach naukowych. Całkowity IF w/w 4 prac wynosi 12.051, a punktacja MEiN 270 pkt. Lek. K. Kwiecińska jest pierwszym autorem 3 prac wchodzących w skład cyklu oraz drugim autorem jednej pracy z cyklu. Do cyklu prac stanowiących rozprawę K. Kwiecińska dołącza wykaz tych prac, wykaz stosowanych skrótów, wprowadzenie do rozprawy, omówienie każdej z prac w języku polskim, streszczenie prac w języku polskim i w języku angielskim, bibliografię obejmującą odpowiednio dobrane 33 pozycje piśmiennictwa cytowanego we wprowadzeniu i w omówieniu prac, zgody Komisji Bioetycznej UJ oraz oświadczenia swoje i oświadczenia wszystkich współautorów dotyczące udziału w realizacji badań, analizie uzyskanych wyników badań oraz w napisaniu prac.

We „Wprowadzeniu" lek. K. Kwiecińska zwięźle, ale w sposób świadczący o dużej znajomości zagadnienia omówiła czynniki ryzyka wznowy ALL u dzieci, stosowane metody oceny odpowiedzi na leczenie dziecięcej ALL, zasady stratyfikacji dzieci z ALL do odpowiednich ramion terapeutycznych w oparciu o zidentyfikowane czynniki ryzyka i wyniki oceny odpowiedzi na leczenie, znaczenie badań polimorfizmów genowych w doborze optymalnego leczenia u pacjentów z ALL, a także problem odległych powikłań leczenia ALL w dzieciństwie z wynikającą stąd potrzebą monitorowania stanu zdrowia ozdrowieńców, w tym u ozdrowieńców, u których w leczeniu poza chemioterapią i radioterapią przeprowadzono również allogeniczną transplantacje komórek krwiotwórczych.

Badania na podstawie, których powstały prace wchodzące w skład cyklu stanowiącego rozprawę doktorską lek. M. K. Kwiecińskiej zostały pozytywnie zaopiniowane przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie.

W pierwszej pracy zatytułowanej **„Extended follow-up of children with high-risk acute lymphoblastic leukemia treated with American and European protocols – A clash of different ideas"** („Wieloletnie obserwacje dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną grupy dużego ryzyka leczonych z zastosowaniem amerykańskich i europejskich protokołów – starcie dwóch różnych idei") przedstawione zostały wyniki leczenia dzieci z ALL z wstępną liczbą leukocytów w krwi obwodowej powyżej 50 x 10^9/L, w tym 45 pacjentów leczonych europejskim protokołem ALL IC-BFM 2002 i 74 pacjentów leczonych amerykańskim protokołem New York. W obu grupach porównano krzywe przeżycia wolnego od niekorzystnych zdarzeń (EFS) i na tej podstawie oceniono istotność czynników ryzyka w zależności od zastosowanego protokołu terapeutycznego. Stwierdzono porównywalne

prawdopodobieństwo 5-letniego EFS u dzieci leczonych wg protokołu ALL IC-BFM 2002 (73%) i leczonych wg protokołu New York (77%). Zaobserwowano, że w obu grupach większość niekorzystnych zdarzeń dotyczyła dzieci z wstępną leukocytozą równą lub większą od 100 x 10^9/L. Nie stwierdzono istotnego wpływu wieku, płci i immunofenotypu komórek białaczkowych na wyniki leczenia. Jedynym czynnikiem, który w grupie dzieci leczonych wg protokołu ALL IC-BFM 2002 wpływał na wyniki leczenia była przynależność do grupy ryzyka, tj. prawdopodobieństwo 5-letniego EFS w grupie pośredniego i wysokiego ryzyka wznowy wynosiło odpowiednio 78.7% i 65.9%.

Celem badań, których wyniki przedstawiono w drugiej pracy z ocenianego cyklu, a zatytułowanej **„Late effects in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia in context of selected gene polymorphism"** („Późne powikłania u pacjentów wyleczonych z ostrej białaczki limfoblastycznej w kontekście wybranych polimorfizmów genowych") była ocena częstości występowania odległych następstw leczenia ALL po upływie co najmniej 10 lat od jego przeprowadzenia w zależności od zastosowanego protokołu terapeutycznego i spostrzeganych polimorfizmów genowych. Badaniem objętych zostało 125 pacjentów, spośród których 100 pacjentów demonstrowało czynniki standardowego lub pośredniego ryzyka wznowy, a pozostałych 25 pacjentów wykładniki wysokiego ryzyka. Wiek pacjentów w chwili rozpoznania ALL mieścił się w przedziale 1-18.5 lat (mediana 4.4 lat), a wiek w chwili przeprowadzania badania wynosił 10.6-33 lat (mediana 20.3 lat). Występowanie późnych następstw leczenia ALL stwierdzono u 52% pacjentów, spośród których najczęstsze były zaburzenia hormonalne, wirusowe zapalenie wątroby, zaburzenia psychiczne oraz neurologiczne. U 46% pacjentów stwierdzono więcej niż jedno odległe powikłanie. Przeanalizowano zależności zachodzące pomiędzy zindentyfikowanymi polimorfizmami genowymi a liczbą i rodzajem tych następstw. Stwierdzono większą częstość występowania zapalenia wątroby u pacjentów będących homozygotami wariantu rs9939609ZA genu FTO oraz częstsze występowanie problemów psychosocjalnych u pacjentów z dzikim typem rs1137101 (Q223R) genu LPR. W trakcie realizacji badania okazało się, że większość pacjentów nie miała prowadzonego regularnego monitorowania stanu zdrowia.

Trzecia praca z cyklu, która nosi tytuł **„Genetic prophiling in children with acute lymphoblastic leukemia referre for allogeneic hematopoietic stem cell transplantatio"** („Ocena profilu genetycznego u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną kierowanych do allogenicznego przeszczepienia komórek krwiotwórczych") przedstawia wyniki badań ekspresji genów ocenianej z wykorzystaniem techniki mikromacierzy w mononuklearach z krwi obwodowej u 18 pacjentów z ALL, w tym 10 z grupy wysokiego ryzyka i 8 po wznowie białaczki, przed rozpoczęciem procedury przygotowania do allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych. W trakcie badań zidentyfikowano 21 genów o określonej funkcji,

które w porównaniu z grupą kontrolną wykazywały obniżoną ekspresję, wśród nich znalazły się trzy geny biorące udział w regulacji DNA oraz jeden gen zaangażowany w regulację limfopoezy. Spostrzegana obniżona ekspresja genów biorących udział w regulacji funkcji układu immunologicznego zdaniem Doktorantki i pozostałych Współautorów pracy świadczy o głębokiej supresji limfocytów B i T u dzieci z ALL przed rozpoczęciem kondycjonowania do allotransplantacji.

Ostatnia, czwarta praca z cyklu zatytułowana **„The analysis of peripheral blood monnonuclear cell gene expressionhighlights the role of extracellular vesickles in the immune trsponse following hematopoietic stem cell transplantation in children"** („Analiza ekspresji genów komórek jednojądrzastych krwi obwodowej podkreśla znaczenie pozakomórkowych pęcherzyków w generowaniu odpowiedzi immunologicznej po przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych u dzieci") miała na celu identyfikację genów i procesów odpowiedzialnych za procesy immunologiczne zachodzące po przeszczepieniu allogenicznych komórek krwiotwórczych. W pracy przedstawiono wyniki badań ekspresji genów techniką mikromacierzy w komórkach jednojądrzastych z krwi obwodowej przed rozpoczęciem procedury transplantacyjnej i po upływie około 6 miesięcy od transplantacji. Badania przeprowadzono ogółem u 27 dzieci, w tym u 18 (67%) z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego i u 9 (33%) z chorobami nierozrostowymi. Zidentyfikowano 139 genów różniących się ekspresją w obu wymienionych punktach czasowych. Spośród nich po transplantacji 91 genów charakteryzowało się większą, a pozostałych 48 mniejszą ekspresją. Następnie na podstawie bazy danych genów zidentyfikowano procesy biologiczne, komponenty komórkowe i funkcje molekularne niektórych spośród tych genów. W odniesieniu do komponentów komórkowych różnice dotyczyły błony komórkowej i jej składników, a w przypadku funkcji molekularnych wiązania antygenów i aktywności endoproteaz serynowych, jednak największe zmiany dotyczyły szlaków immunologicznych oraz uwalniania mediatorów odpowiedzi immunologicznej. Stwierdzono zwiększenie ekspresji genów odpowiedzialnych za powstawanie mikropęcheryzków co zdaniem Doktorantki i Współautorów pracy może wpływać na kształtowanie się odpowiedzi immunologicznej i występowanie GvHD po allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych.

Omówienie wyników badań w każdej z prac wchodzących w skład cyklu stanowiącego rozprawę doktorską lek. Kingi Kwiecińskiej zostało przeprowadzone w sposób, który świadczy o umiejętności naukowego myślenia i klarownego przedstawiania wyników badań, a także o zdolności krytycznego konfrontowania wyników badań własnych z wynikami innych autorów, a zatem o naukowej dojrzałości Doktorantki. Jednocześnie zostały umiejętnie podkreślone własne oryginalne spostrzeżenia.

Każdą z czterech prac cyklu kończą wnioski, które odpowiadają celom podejmowanych badań i dokumentują ich realizację.

Wyniki badań przedstawione w pracach wchodzących w skład cyklu mają zarówno znaczenie naukowe, jak i kliniczne i powinny przyczynić się do dalszej optymalizacji kompleksowego leczenia ALL u dzieci i młodzieży, a poprzez to do dalszej poprawy bezpieczeństwa i odległych wyników leczenia ALL w populacji pediatrycznej.

Reasumując, cykl 4 opublikowanych oryginalnych prac naukowych stanowiący rozprawę doktorską lek. Kingi Kwiecińskiej, którego wspólnym wątkiem tematycznym są wyniki leczenia i występowanie powikłań leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci i młodzieży w kontekście spostrzeganego profilu genetycznego, oceniam wysoko. Stanowi on oryginalny i ważny przyczynek do dalszych postępów w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci i młodzieży.

Stąd uważam, że rozprawa doktorska lek. Kingi Kwiecińskiej spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 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.) i zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego z wnioskiem o dopuszczenie lek. Kingi Kwiecińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. zw. dr hab. med. Jacek Wachowiak