

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Marka Dudzińskiego pod tytułem:
„Ocena zawartości białka p27^{Kip1} w komórkach przewlekłej białaczki limfocytowej
oraz jej związek z przebiegiem choroby”**

VLDI
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSZYPLINARNA
Przewlekła Białaczka Limfocytowa
prof. dr hab. Agnieszka Haloń

Przewlekła białaczka limfocytowa to najczęściej występujący nowotwór układowy krwiotwórczego i chłonnego u dorosłych chorych. Nie wszyscy pacjenci wymagają leczenia. Jest ono wprowadzane w zaawansowanych stadiach choroby. Możliwe, że w przyszłości będzie ono stosowane na wcześniejszym etapie rozwoju białaczki u chorych z obecnością czynników agresywnego przebiegu choroby. Należą do nich: obecność delekcji 17p lub mutacji TP53 oraz brak mutacji genów dla łańcuchów ciężkich immunoglobulin. Stale trwają badania nad wykryciem u pacjentów innych nieprawidłowości mających znaczenie dla przebiegu choroby. Mogą do nich należeć zmiany w zawartości białka p27^{Kip1} w limfocytach białaczkowych.

Proliferacja komórek zależna jest od postępu cyklu komórkowego, w czym kluczową rolę regulatorową pełnią cykliny oraz kinazy cyklinozależne (cyclin-dependent kinase, CDK), które tworzą aktywny kompleks cyklina-CDK o właściwościach modyfikujących aktywność szeregu białek biorących udział w cyklu podziałowym komórki. Białkiem wpływającym na aktywność proliferacyjną komórek jest inhibitor kinaz cyklinozależnych - białko p27^{Kip1}, które hamuje proliferację na skutek blokowania aktywności cykliny E wpływającej na przejście fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Stwierdzono, że spadek ekspresji tego białka oraz wzrost aktywności cykliny E-CDK2 wiąże się z gorszym rokowaniem oraz zwiększa ryzyko progresji choroby nowotworowej. Potwierdzono to w badaniach nad inwazyjnością i niekorzystnym rokowaniem w raku piersi oraz jelita grubego u pacjentów z obniżoną ekspresją tego białka. Dowiedziono ponadto, że białko to może także regulować apoptozę oraz migrację komórek. Co ciekawe, może ono zarówno pobudzać jak i hamować te procesy w zależności od lokalizacji białka w obrębie komórki. Zaobserwowano, że jeśli białko p27^{Kip1} zlokalizowane jest wewnątrzjądro, pełni rolę białka supresorowego, natomiast obecność w cytoplazmie wiąże się z pobudzaniem szkieletu komórki do remodelowania i może mieć wpływ na uzyskanie przez komórkę nowotworową zdolności do tworzenia ognisk przerzutowych. Założenia te wydają się mieć także potwierdzenie kliniczne, ponieważ wykazano, że zmniejszona ekspresja wewnątrzjądro białka p27^{Kip1} ma wpływ na gorsze rokowanie w wielu chorobach nowotworowych u ludzi. Konieczne są dalsze badania nad rolą

białka p27^{Kip1}, zwłaszcza mechanizmów regulacji ekspresji poszczególnych jego izoform, co może mieć także istotne przełożenie kliniczne.

Istniejące doniesienia wskazują na istotną rolę białka p27^{Kip1} w patogenezie przewlekłej białaczki limfocytowej (PBL) i w kształtowaniu przebiegu choroby. Poznanie zaburzeń wewnątrzkomórkowych, prowadzących do nadmiernej akumulacji p27^{Kip1} w limfocytach PBL, jak i wpływ tej akumulacji na przeżycie limfocytów białaczkowych, wymaga dalszych badań.

Stąd też celami pracy doktorskiej lek. Marka Dudzińskiego było zbadanie:

1. Czy zawartość białka p27^{Kip1} w komórkach białaczkowych PBL ma związek z wybranymi parametrami hematologicznymi i biochemicznymi o uznanym znaczeniu rokowniczym i jaki jest jej wpływ na przebieg kliniczny choroby ?
2. Czy zawartość białka p27^{Kip1} w komórkach białaczkowych ma związek z aktywacją i potencjałem proliferacyjnym komórek tych komórek, ocenianych za pomocą ekspresji antygenów powierzchniowych CD69 i CD71 ?
3. Czy wczesna apoptoza *ex vivo* komórek białaczkowych w PBL ma związek z wewnątrzkomórkową zawartością białka p27^{Kip1} oraz z wybranymi parametrami laboratoryjnymi i jaki jest jej wpływ na przebieg kliniczny choroby ?

Na przeprowadzenie badania lek. Marek Dudziński uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Rzeszowie. Badaniem objęto 36 pacjentów, w tym 14 (39%) kobiet i 22 (61%) mężczyzn z rozpoznaniem przewlekłej białaczki limfocytowej, uprzednio nieleczonych z tego powodu kolejno zgłaszających się do Poradni Hematologicznej Kliniki Hematologii Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 w Rzeszowie. Mediana wieku pacjentów wynosiła 68,5 roku (zakres 34-79 lat). U pacjentów w chwili rekrutacji do badania nie występowały wskazania do leczenia cytostatycznego według obowiązujących wówczas rekomendacji IWCLL 2008. Rozpoznanie ustalono, lub potwierdzono (w przypadku chorych z chorobą rozpoznaną wcześniej) na podstawie obecności we krwi obwodowej monoklonalnych limfocytów o immunofenotypie CD5⁺19⁺CD23⁺ w liczbie co najmniej 5 G/l. Wszyscy pacjenci wyrazili świadomą zgodę na udział w badaniu.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje wraz ze streszczeniami, wykresami, rycinami i tabelami 102 strony wydruku komputerowego. Układ pracy przedstawiony w spisie treści jest poprawny.

We **wstępie** Autor szczegółowo omawia aktualny stan wiedzy na temat przewlekłej białaczki limfocytowej ze szczególnym uwzględnieniem czynników ryzyka oraz roli białka p27^{Kip1}.

Postawione **cele pracy** należy uznać za godne realizacji.

Pacjenci i metody stanowią kolejny rozdział, szczegółowo opisujący przebieg badania.

Wyniki podane są w osobnym rozdziale w formie graficznej i opisowej, pozwoliły one na sformułowanie następujących wniosków, które zostały przedstawione w sposób opisowy w sposób opisowy i stanowią odpowiedzi na postawione cele pracy:

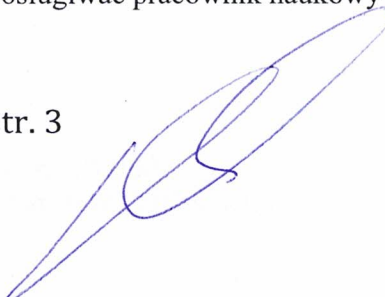
1. Nie wykazano związku zawartości białka p27^{Kip1} w komórkach PBL z badanymi parametrami laboratoryjnymi związanymi z zaawansowaniem choroby i z jej rokowaniem. Zaobserwowano natomiast jego niekorzystny wpływ na przebieg PBL we wczesnych i pośrednich fazach zaawansowania klinicznego, wyrażający się skróceniem czasu przeżycia wolnego od progresji oraz czasu do konieczności rozpoczęcia leczenia cytostatycznego.
2. Nie wykazano związku pomiędzy wczesną apoptozą komórek białaczkowych a wewnątrzkomórkową zawartością białka p27^{Kip1}, ani z badanymi parametrami laboratoryjnymi. Nie wykazano też jego wpływu na czas przeżycia wolnego od progresji choroby.
3. Wysoka aktywność LDH oraz ekspresja ZAP-70 w limfocytach białaczkowych są związane ze skróceniem czasu przeżycia wolnego od progresji choroby. Nie wykazano natomiast wpływu ekspresji markerów aktywacji i proliferacji limfocytów (CD69 i CD71) na komórkach białaczkowych na przebieg choroby w badanej grupie pacjentów. Może to być związane z nie do końca poznaną rolą tych czynników w biologii i kształtowaniu obrazu klinicznego PBL. W szczególności nie zaobserwowano związku pomiędzy ekspresją CD71 i zawartością p27^{Kip1}, co uzasadnia dalsze badania nad rolą omawianego białka w regulacji aktywności proliferacyjnej komórek PBL.

W **Omówieniu wyników i dyskusji** Autor w sposób zwięzły i szczegółowy porównuje uzyskane przez siebie wyniki z rezultatami badań przeprowadzonych, opublikowanych przez innych lekarzy.

Piśmiennictwo jest bardzo rozbudowane, dobrane właściwie, w zdecydowanej większości pochodzi z ostatnich 15 lat.

Podsumowując ocenę rozprawy doktorskiej należy stwierdzić, że stanowi ona kolejny krok w ocenie roli białka p27^{Kip1} w przewlekłej białaczki limfocytowej.

W pracy lekarz Marek Dudziński wykazał się znajomością warsztatu jakim powinien się posługiwać pracownik naukowy- lekarz. Na wyróżnienie zasługuje perfekcyjne wykorzystanie



metod statystycznych do opracowania uzyskanych wyników, niestety w grupie chorych o małej liczbie.

Z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć również o obecności DROBNYCH uchybień w pracy:

1. Zbyt długi wstęp w stosunku do całości pracy doktorskiej
2. Obecne są uchybienia stylistyczne i interpunkcyjne, np. częste powtórzenia wyrazów na tej samej stronie pracy, nadużywanie słowa pacjent zamiast chory

Uchybienia w zakresie opracowania statystycznego:

1. Zbyt małe liczebności porównywanych wyników, nie dają podstaw do aż tak merytorycznych uogólnień we wnioskach.

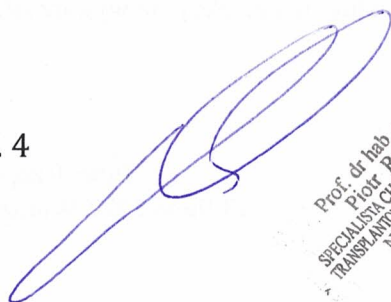
Tabela nr 2 wymaga poprawy- prawa kolumna, ostatni wiersz: jest- Wysoka ekspresja CD 69; powinno być- Wysoka ekspresja CD 71.

Pomimo obecności tych drobnych uchybień w zakresie formalnego opracowania (styl, interpunkcja, błędy literowe i językowe, usterki w układzie pracy) pracę oceniam bardzo pozytywnie ze względu na zaprezentowany materiał oraz istotne klinicznie refleksje nad nim.

Rozprawa doktorska 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.).

Biorąc pod uwagę powyższe zwracam się zatem do Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Marka Dudzińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego, dziękując jednocześnie za przywilej recenzowania tej pracy.

str. 4



Prof. dr hab. n. med.
Piotr Rzepecki
SPECJALISTA CHOROZÓB WNERWICZNYCH
TRANSPLANTOLOGII KLINICZNAJ HEMATOLOG
Nr. ZUS 7 7 7 6 8 5 9

Piotr Rzepecki
18 lipca 2022 Warszawa