



Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE

wpi.
dnia 18-08-2023

L. dz. RN-BMK 1456

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu



RPW/14307/2023 P
Data: 2023-08-17

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

Kraków, dnia 2 sierpnia 2023 roku

W d
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
zastępca przewodniczącego
M. Podhorska-Okołów
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Michała Batora zatytułowanej
„Rola mikrobioty jelitowej u chorych na szpiczaka plazmocytozy”**

Szpiczak plazmocytowy jest złośliwym nowotworem hematologicznym, wywodzącym się z limfocytów B w końcowym etapie ich różnicowania. W Polsce jest drugim pod względem częstości zachorowań nowotworem układu limfoidalnego po przewlekłej białaczkę limfocytowej. Stanowi 1-2% wszystkich nowotworów oraz około 10-15% nowotworów hematologicznych. W ostatnich latach obserwuje się stały wzrost zachorowalności na szpiczaka plazmocytozy i choć zauważalne jest wydłużenie przeżycia pacjentów i poprawa rokowania, to w dalszym ciągu pozostaje jednostką nieuleczalną. Etiologia choroby nie jest do końca poznana. W etiopatogenezie szpiczaka plazmocytozy pewną rolę mogą odgrywać czynniki genetyczne, immunologiczne oraz narażenie środowiskowe.

Kluczowe znaczenie dla przetrwania i proliferacji klonu nowotworowego ma dysregulacja immunologiczna związana ze specyficznym mikrośrodowiskiem nowotworu. Charakteryzuje się ono upośledzeniem funkcji komórek odporności wrodzonej, spadkiem aktywności limfocytów pomocniczych i cytotoksycznych z jednoczesnym przesunięciem w kierunku komórek supresorowych.

Wśród wielu czynników przyczyniających się do dysregulacji immunologicznej w nowotworach wymienia się zaburzenia w zakresie mikrobiomu jelitowego. W ostatnich latach oddziaływania między układem immunologicznym a mikrobiomem stały się przedmiotem licznych badań w dziedzinie onkologii

i hematologii. Zaburzenia flory jelitowej mogą prowadzić do zwiększonej podatności na infekcje oraz poprzez modulację mikrośrodowiska immunologicznego mogą przyczyniać się do progresji nowotworu.

Przeszczepienie mikrobioty jelitowej jest powszechnym postępowaniem w przypadku nawrotowej infekcji *C. difficile*. W ostatnich latach, immunomodulujący wpływ przeszczepienia flory jelitowej jest również przedmiotem badań eksperymentalnych w chorobach zapalnych jelit, cukrzycy, stwardnieniu rozsianym i w chorobach nowotworowych (zwłaszcza w skojarzeniu z inhibitorami PD-1).

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w formie pracy monograficznej. Praca liczy 103 strony, a w jej obrębie zawarto 17 rycin oraz 7 tabel. Praca jest ustrukturyzowana według klasycznego podziału na wstęp, cel, metodologię, wyniki, dyskusję oraz wnioski, z tym że część merytoryczna jest poprzedzona partiami formalnymi w postaci skrupulatnego Spisu treści (1) oraz Alfabetycznego wykazu skrótów używanych w tekście (2). W obszernej bibliografii (12) Doktorant przywołuje 169 pozycji piśmiennictwa, obejmujących wytyczne, prace pogładowe, opisy przypadków, jak też najnowsze prace oryginalne opublikowane w języku angielskim. Warto jednak zaznaczyć, że pozycja nr 82 z owego przywołanego piśmiennictwa została jeszcze dwukrotnie powtórzona (pod numerem 116 i 169).

Promotorami niniejszej rozprawy są Pani Prof. dr hab. med. Lidia Usnarska-Zubkiewicz z Katedry i Kliniki Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu i Pan Prof. dr hab. Marcin Nowak, Kierownik Katedry Patologii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Na przeprowadzenie badań będących przedmiotem tej pracy uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej. Badania przeprowadzono w ramach realizacji projektu pt.: „ProHum – Interdyscyplinarna Szkoła Doktorska – planowanie badań eksperymentalnych, tworzenie i optymalizacja zwierzęcych modeli doświadczalnych z umiejętnościami transferowania ich do badań klinicznych w medycynie człowieka”. Środki do realizacji projektu pochodziły z Projektu ProHUM oraz z wsparcia finansowego Rektora ds. Nauki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Inicjujący pracę dość obszerny, bo stanowiący prawie 1/3 tekstu, Wstęp (oznaczony formalnie numerem 3) podzielono na pięć podrozdziałów. W podrozdziale pierwszym Autor krótko definiuje jednostkę chorobową, przedstawia genetyczne uwarunkowania rozwoju szpiczaka plazmocytoowego. W kolejnych podrozdziałach Doktorant najpierw przytacza pierwsze opisy przypadków choroby i szczegółowo opisuje epidemiologię nowotworu, a następnie wyczerpująco charakteryzuje poszczególne postaci szpiczaka plazmocytoowego, prezentuje ich diagnostykę, stopnie zaawansowania choroby i metody leczenia.

W ostatnim podrozdziale szczegółowo opisuje historię i metodologię badań nad mikrobiomem jelitowym, wpływ mikrobiomu na homeostazę układu immunologicznego, przytacza dotychczasowe dane na temat roli mikrobioty jelitowej w patogenezie chorób, z uwzględnieniem chorób hematologicznych.

Wyczerpująco wyjaśnia też kontekst naukowy realizowanego projektu badawczego.

Podsumowując, Wstęp wprowadza czytelnika w sposób właściwy do tematyki pracy. Można jednak dostrzec pojedyncze błędy edytorskie, głównie interpunkcyjne (jak na przykład niekonsekwentne używanie znaku kropki po tytułach podrozdziałów, obecność nadmiarowej spacji za znakiem cudzysłów) i gramatyczne: nieprawidłowe (nieuzgodnione) końcówki (np. „mikrobom jelitowa”) czy potknięcia gramatyczne w konstrukcji zdań (np. „dlatego też częstość występowania raka jelita grubego jest znacznie wyższa w jelicie grubym niż w jelicie cienkim”).

W mojej ocenie warto by również poza wszystkim poświęcić kilka zdań tematyce przeszczepiania mikrobioty jelitowej, co w ostatnich latach znajduje coraz szersze zastosowanie w leczeniu nawrotowych zakażeń przewodu pokarmowego (w tym u chorych hematologicznych), jak również w ramach terapii eksperymentalnych, zakładających immunostymulujący wpływ mikrobioty w leczeniu onkologicznym.

Właściwa treść pracy jest przedstawiona w kolejnych rozdziałach. Najpierw krótki rozdział, oznaczony jako 4, zwięźle i przejrzyście przedstawia cel pracy, którym jest zbadanie mikrobiomu pacjentów z nowo rozpoznanym szpiczakiem plazmocytoowym w odniesieniu do składu mikrobiomu zdrowych Polaków.

Następny rozdział (oznaczony jako 5) Autor poświęca metodologii badania, przedstawiając ją szczegółowo w kolejnych podrozdziałach. Według tej relacji badaniem objęto 19 chorych zdiagnozowanych (w oparciu o kryteria IMGW) w latach 2021-2022 w Klinice Hematologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Grupę kontrolną stanowiło 20 zdrowych ochotników, dobranych pod względem płci i wieku. Kryteriami wykluczającymi dla grupy kontrolnej było obciążenie nowotworem jelita grubego, zapaleniem jelit lub przyjmowanie antybiotyku w ostatnich trzech miesiącach przed badaniem. W odniesieniu do grupy badanej nie wyszczególniono kryteriów wyłączenia.

W kolejnych podrozdziałach rozdziału 5 szczegółowo opisano metodykę badania kału, które przeprowadzono z wykorzystaniem sekwencjonowania genu 16S rybosomalnego RNA. Równie precyzyjnie opisano też metody bioinformatyczne i statystyczne z pomocą których uzyskano wyniki.

Wyniki przedstawiono w rozdziale 6 w formie 3 tabel i 17 rycin. W pierwszej tabeli tego rozdziału (tabela nr 5 w całej pracy) przedstawiono charakterystykę badanej grupy z uwzględnieniem głównie markerów biochemicznych choroby. Nie przedstawiono niestety danych dotyczących chorób towarzyszących, mogących stanowić czynniki zakłócające dla interpretacji uzyskanych wyników.

W kolejnej tabeli (nr 6) Autor przedstawia wyniki analizy mikrobiomu w aspekcie beta-różnorodności (różnicy składzie gatunków między różnymi próbkami lub ekosystemami). Tabela ta, dla większej przejrzystości wyników, wymagałaby właściwego sformatowania i ujednolicenia języka, w którym opisane są kolumny. W analizie wykazano istotność statystyczną dla beta-różnorodności ocenianej każdą z metryk. Na kolejnych rycinach przedstawiono wzajemne różnice między poszczególnymi próbkami mikrobiomów wszystkich badanych osób.

W następnej tabeli (nr 7) przedstawiono wyniki różnorodności alfa (będącej miarą różnorodności gatunków w obrębie jednej próbki). W badaniu nie wykazano istotnych różnic w zakresie różnorodności alfa między grupą pacjentów a kontrolną. W ostatnim podrozdziale (6.4) przedstawiono wyniki analizy ANCOM, która pozwoliła na wykazanie taksonów odpowiedzialnych za różnice w beta-różnorodności. Na 12 rycinach przedstawiono graficznie różnice w zakresie obfitości względnej różnych rodzin i klas bakterii między pacjentami a

zdrową grupą kontrolną. Wykazano mniejszą obfitość względną grupie w osób chorych na szpiczaka w odniesieniu do bakterii zaliczanych do rodzin: Peptostreptococcaceae, Lachnospiraceae, Staphylococcaceae oraz rodzajów Erysipelotrichaceae UCG-003 i Anaerostipes.

Kolejny rozdział, czyli 7, jest kluczowy dla pracy, stanowi go bowiem omówienie wyników i dyskusja. Autor w odrębnych podrozdziałach opisuje każdą z wyżej wymienionych rodzin bakterii, odnosząc się przy tym do dotychczas opublikowanych prac naukowych podejmujących podobną tematykę.

W osobnym podsumowaniu autor podkreśla rolę mikrobioty jelitowej w homeostazie układu immunologicznego i sugeruje potencjalny wpływ na dysregulację immunologiczną wykazanych w pracy zaburzeń flory jelitowej. Warto zaznaczyć, że badanie ma charakter pionierski – jest pierwszą analizą mikrobomu jelitowego w polskiej populacji chorych na nowo rozpoznanego szpiczaka plazmocytozy. Uzyskane wyniki mogą w przyszłości implikować określone korzyści kliniczne.

Pracę zamykają autorskie wnioski i spostrzeżenia, streszczenie po polsku i angielsku, bibliografia oraz wykaz tabel, rycin i rysunków.

Z recenzenckiego obowiązku przedstawiam następujące sugestie i uwagi krytyczne:

1. Badanie przeprowadzono na grupie o małej liczebności (tj. 19 pacjentów chorych na szpiczaka plazmocytozy i 20 osób zdrowych). Większa grupa badana z pewnością podniosłaby wartość merytoryczną pracy.
2. W charakterystyce klinicznej nie przedstawiono danych dotyczących chorób towarzyszących i przyjmowanych przez chorych leków. Nie ma również informacji na temat analizy statystycznej w odniesieniu do potencjalnych czynników zakłócających (np. współistniejąca cukrzyca, nawrotowe infekcje, antybiotykoterapie czy inne schorzenia mogące wpływać na mikrobiotę jelitową).
3. W pracy nie poruszono zagadnienia przeszczepiania flory jelitowej, będącej bardzo aktualnym tematem w dziedzinie hematologii i onkologii.

Wymienione uwagi nie rzutują jednak na jakość i wartość merytoryczną przedłożonej rozprawy. Wykorzystana w pracy metodyka, warsztat laboratoryjny oraz interdyscyplinarny charakter pracy stanowią kwintesencję współczesnej hematologii klinicznej. Należy też podkreślić innowacyjność pracy, wynikającą w dużej mierze z zastosowania nowoczesnych i skomplikowanych technik badawczych. Uzyskane wyniki dają podstawę do dalszych badań nad rolą mikrobiomu w szpiczaku plazmocytowym. Co najistotniejsze, mogą one w przyszłości implikować również korzyści kliniczne.

Niniejszym stwierdzam, że przedłożona do mojej oceny rozprawa doktorska lek. Michała Batora spełnia warunki określone w art. Art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668)".

Proszę Radę Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Michała Batora do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Bardzo dziękuję za przywilej recenzowania tej pracy.

2 VIII 2023r.

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