



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71
www.iitd.pan.wroc.pl

**Ocena rozprawy doktorskiej lek. Marcina Sokołowskiego
ze Specjalistycznego Szpitala im. Doktora A. Sokołowskiego w Wałbrzychu**

**pt.” Analiza polimorfizmu genów kodujących białka uczestniczące
w szlaku nekroptozy w szpiczaku plazmocytowym”**

Celem rozprawy doktorskiej lek. Marcina Sokołowskiego była analiza występowania polimorfizmów w genach kodujących białka kluczowe dla procesu nekroptozy, tj.: RIPK-1, RIPK-3 oraz MAPKAP2 oraz ocena potencjalnych związków pomiędzy występowaniem zmienności genetycznej tych genów a ryzykiem zachorowania na szpiczaka plazmocytoowego i przebiegiem klinicznym choroby.

Temat pracy jest oryginalny i wpisuje się w nowoczesny nurt badań nad poszukiwaniem nowych czynników prognostycznych u chorych na szpiczaka plazmocytoowego, co może pomóc w ustaleniu indywidualnych strategii leczenia u poszczególnych chorych na szpiczaka plazmocytoowego.

W obszernym Wstępie Doktorant kolejno omawia patogenezę szpiczaka plazmocytoowego, objawy kliniczne, kryteria rozpoznania, ocenę zaawansowania choroby w tym klasyfikację Durie-Salmona, międzynarodową klasyfikację prognostyczną (ISS), zmodyfikowaną międzynarodową klasyfikację prognostyczną (RISS). Osobny podrozdział poświęcony jest omówieniu zaburzeń cytogenetycznych w kontekście stratyfikacji chorych do poszczególnych grup ryzyka. Omawia również kryteria diagnostyczne oraz przebieg kliniczny i leczenie gammopatii o nieustalonym znaczeniu (MGUS), szpiczaka tłęcego (smoldering myeloma), szpiczaka odosobnionego, pierwotnej ameloidozy, zespołu POEMS oraz białaczki plazmatyczno-komórkowej.



Kolejny rozdział poświęcony jest omówieniu najważniejszych grup leków stosowanych w terapii szpiczaka plazmocytozy, w tym inhibitorom proteasomu, lekom immunomodulującym oraz daratumumabowi - monoklonalnemu przeciwciału anty CD38. Ponadto omawia wskazania do leczenia transplantacyjnego oraz terapię u chorych nie kwalifikujących się do leczenia transplantacyjnego.

Kandydat szczegółowo omawia mechanizmy apoptozy, w tym zewnątrz i wewnątrz-pochodną ścieżkę apoptotyczną, fazę wykonawczą oraz fazę „uprzątnięcia”.

Kolejno omawia proces nekrozy, autofagii i nekroptozy.

Materiał chorych obejmuje 102 chorych na szpiczaka plazmocytozy. Grupę kontrolną stanowiło 100 zdrowych osób. Analizie poddano występowanie polimorfizmu genów kodujących trzy białka odgrywające istotną rolę w procesie nekroptozy: RIPK1, RIPK2, MAPKAPK2. Miejsca polimorficzne wytypowane do analizy uzyskano na podstawie danych literaturowych. Dodatkowo wykorzystano serwis SNP Function Prediction. Występowanie poszczególnych polimorfizmów genów badana była za pomocą metody Real Time PCR (ang. Real Time Polymerase Chain Reaction – łańcuchowa reakcja polimerazy w czasie rzeczywistym). Do analizy miejsc polimorficznych wykorzystano komercyjnie dostępne zestawy starterów i sond LightSNiP firmy Tib Molbiol.

Materiał genetyczny (DNA) wyizolowano z próbek krwi obwodowej 102 chorych na szpiczaka plazmocytozy oraz 100 osób zdrowych. Następnie przy pomocy metody RT-PCR dokonano analizy polimorfizmu w sześciu *loci* genów kodujących białka kluczowe dla tego procesu – *RIPK1* rs2272990, *RIPK1* rs9391981, *RIPK3* rs724165, *RIPK3* rs3212243, *MAPKAPK2* rs45514798 oraz *MAPKAP2* rs4073250. Wykorzystując narzędzia statystyczne porównano występowanie badanych polimorfizmów w stosunku do przebiegu klinicznego choroby, leczenia, rokowania w populacji chorującej na szpiczaka plazmocytozy.

Wykazano, iż posiadanie przez chorego homozygoty GG w rs3212243 (*RIPK3*) jest niezależnym czynnikiem prognostycznym związanym z dłuższym przeżyciem całkowitym u chorych na szpiczaka plazmocytozy (hazard=4,40 CI=1,68÷11,5, p=0,00253). Nosiciele genotypu GG w rs2272990 (*RIPK1*), charakteryzowali się dłuższym przeżyciem całkowitym (mediana= 29 miesięcy vs 15 miesięcy; p=0,0284) oraz czasem wolnym od progresji choroby (11 miesięcy vs 4,5 miesiąca; p=0,0411). W grupie chorych leczonych bortezomibem występowanie genotypu AA rs3212243 (*RIPK3*) wiązało się z dłuższym przeżyciem

($p=0,0228$). Chorych poddanych terapii z zastosowaniem talidomidu, noszących genotyp GG w *RIPK3* rs724165, cechowało dłuższe przeżycie całkowite (mediany OS= AG = 30 miesięcy, AA = 33,5 miesięcy, GG = 62 miesiące; $p=0,0284$). Powikłania leczenia w postaci polineuropatii występowały istotnie statystycznie częściej u chorych z wariantami AA w *loci* rs724165 ($p=0,044$) i rs3212243 ($p=0,012$) oraz GG dla rs45514798 ($p=0,0104$).

Niewydolność nerek cechowała częściej chorych z genotypem GG w *loci* rs724165 ($p=0,0784$). Nie wykazano różnic w występowaniu badanych polimorfizmów pomiędzy chorymi na szpiczaka plazmocytozy a grupą kontrolną. Wariant polimorficzny AA dla *loci* rs724165 (*RIPK3*) występował częściej u kobiet chorujących na szpiczaka plazmocytozy w porównaniu do mężczyzn obciążonych tą chorobą ($p=0,0378$).

Podsumowanie:

Niektóre z badanych SNP mają istotną wartość prognostyczną, stąd mogą posłużyć jako dodatkowe narzędzie w praktyce klinicznej, służące dobieraniu indywidualnych strategii leczniczych w szpiczaku plazmocytozy.

We wzorowo napisanej Dyskusji Autor wykazał, że jest świetnie obeznany z piśmiennictwem, które jest aktualne i starannie dobrane oraz, co godne podkreślenia, potrafi interpretować własne wyniki w świetle innych doniesień. Dyskusja jest obszerna i wyczerpująca. Całość Rozprawy kończy pięć wniosków, które znajdują odzwierciedlenie w przeprowadzonych badaniach własnych.

Reasumując uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Marcina Sokołowskiego ma charakter poznawczy i duże implikacje kliniczne. Praca ta posiada prawidłowy układ i struktury podziału treści. Uzyskane wyniki mają oryginalny charakter i stanowią podstawę do dalszych badań laboratoryjnych i klinicznych. Autor wykazał szeroką wiedzę teoretyczną oraz opanowanie nowoczesnych, skomplikowanych technik laboratoryjnych. Ze względu na bardzo wysoki poziom naukowy przeprowadzonych badań, niezwykle staranną redakcją pracy mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wysoce pozytywną recenzję pracy z wnioskiem o dopuszczenie lek. Marcina Sokołowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

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.).

prof. dr hab. Irena Frydecka
specj. chorób wewnętrznych
i hematologii
51-602 Wrocław, ul. Kochanowskiego 3
tel. 661317832 8621490