

KATEDRA FIZJOPATOLOGII, HEMATOLOGII I TRANSPLANTACJI SZPIKU

ZAKŁAD PATOLOGII OGÓLNEJ

POMORSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY w Szczecinie

70-111 Szczecin
Al. Powstańców Wlkp. 72

tel. (091) 466-15-46
tel./fax (091) 466-15-48

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Soni Marii Dębek pt. "Discovery and characterization of epigenetic function of PIM kinases in diffuse large B-cell lymphoma"

Praca jest obszerną dysertacją, liczącą 125 stron, w rozdziale piśmiennictwo zawiera 207 pozycji, 3 rozbudowane tabele, 4 złożone, wielopanelowe ryciny. Praca napisana jest w języku angielskim, poprzedzona spisem treści, zawiera streszczenie w językach polskim i angielskim oraz wykaz ważniejszych skrótów używanych w pracy. Rozprawa, jej układ treści, układ rozdziałów oraz opracowanie graficzne są przejrzyste, starannie zredagowane zgodnie z ogólnie przyjętymi wymogami prac doktorskich. Cytowane piśmiennictwo jest adekwatne do treści, a ponad 40%, z ogólnej liczby ujętych referencji, opublikowana została w ciągu ostatnich pięciu lat.

We wstępie liczącym 19 stron mgr Sonia Maria Dębek komunikatywnie i jasno przedstawiła zarys patofizjologii i opcji terapeutycznych chłoniaka rozlanego z dużych limfocytów B (DLBCL). Szeroko scharakteryzowała proto-onkogenne serynowo/treoninowe kinazy PIM (ang. proviral insertion in murine malignances) jako kluczowe enzymy regulujące różnorodne, witalne procesy komórkowe. Wspomniała o innowacyjnym podejściu terapeutycznym wykorzystującym inhibitory kinaz PIM w badaniach przedklinicznych i klinicznych. Zdefiniowała i opisała ponadto epigenetyczną regulację transkrypcji genów zwracając szczególną uwagę na rolę PIM poprzez fosforylację histonu H3S10. Wstęp stanowi interesujący i szeroko ujęty przegląd informacji obejmujący aktualny stan wiedzy na temat kinaz PIM, w odniesieniu także do patofizjologii DLBCL.

Jako główny cel Doktorantka postawiła sobie ocenę roli kinaz PIM w regulacji epigenetycznej ekspresji genów oraz konsekwencji zahamowania ich aktywności w komórkach DLBCL.

Schorzenia hematologiczne są wciąż dużym wyzwaniem dla współczesnej medycyny. Pomimo postępu jaki dokonał się, zwłaszcza w ostatnich 15 latach, zarówno w dynamicznym pogłębianiu wiedzy, jak i wprowadzaniu do praktyki klinicznej nowoczesnych leków i schematów terapeutycznych, u wielu pacjentów napotyka się problemy z uzyskaniem trwałego wyleczenia lub długotrwałej remisji. Do najczęstszych schorzeń hematologicznych należy agresywny chłoniak rozlany z dużych limfocytów B. Mimo, że rozpoznanie DLBCL w najwcześniejszym stadium choroby znacząco zwiększa szanse całkowitego wyleczenia, to jednak w ujęciu globalnym odległe skutki współcześnie dostępnej terapii wciąż nie są optymalne. Podejmowane są zatem badania, mające na celu poprawę wyników leczenia, ukierunkowane na większą indywidualizację terapii, w zależności od konkretnych zaburzeń genetycznych, molekularnych i komórkowych leżących u podłoża choroby, a także czynników ryzyka i chorób współistniejących u danego chorego. Szczególnie interesujący, z punktu widzenia poznawczego, jest obszar regulacji ekspresji genów nawet bez uchwytnych zmian genetycznych, stanowiący niekiedy rzeczywisty fundament dla rozwoju nowotworu wraz z towarzyszącą dysfunkcją układu immunologicznego.

W świetle tego zadanie, jakiego podjęła się Doktorantka, ukazuje się jako niezwykle aktualne i pożądane zarówno dla naukowca jak i klinicysty. Badania, które przyczyniają się do dogłębnego poznania mechanizmów molekularnych i patofizjologicznych leżących u podstaw onkogenezy, zwłaszcza w obszarze epigenetyki, mogą mieć bowiem ważne przełożenie na praktykę kliniczną. Pragnę w tym miejscu podkreślić, że rozpoznawalny w świecie wkład, odnośnie roli kinaz PIM w schorzeniach hematologicznych, wniosły badania naukowe prowadzone przez zespół p. prof. Przemysława Juszczynskiego z Zakładu Hematologii Eksperymentalnej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie.

Badania eksperymentalne Doktorantka przeprowadziła w warunkach *in vitro*, w dobrze zdefiniowanych modelach badawczych, z użyciem hodowli komórkowych, immunocytochemii, inżynierii genetycznej, szerokiej gamy badań molekularnych, proteomicznych i bioinformatycznych. Szczególną uwagę zwraca szeroka, bogata i wyczerpująca analiza funkcjonalna, immunocytochemiczna oraz molekularna komórek na wszystkich kluczowych etapach przeprowadzonych badań. Na podkreślenie zasługuje spójność i logika przeprowadzonych kolejnych doświadczeń oraz ogromny wkład pracy włożony w realizację projektu. W tekście nie doszukałem się jednak

informacji na temat warunków tlenowych przeprowadzonych eksperymentów hodowli komórkowej. Czy zatem komórki inkubowane były w 21% tlenie atmosferycznym czy może w tzw. niskich warunkach tlenowych (np. 5%) panujących *de facto* w tkankach, co znacząco przybliżyłoby warunki eksperymentalne do panujących w żywym organizmie. Jeśli warunki tlenowe wynosiły 21% to w jakim stopniu, zdaniem Doktorantki, wyniki mogłyby różnić się od tych uzyskanych w warunkach „niskiego tlenu”. Poproszę o komentarz.

W całości, wybrane przez Doktorantkę metody spełniają kryteria adekwatnie dobranych, nowoczesnych narzędzi badawczych do realizacji postawionych sobie celów.

Wyniki przedstawiono w postaci tabel, rycin oraz dokładnie omówiono w tekście. Należy raz jeszcze podkreślić niezwykle szeroką i interesującą gamę zastosowanych technik badawczych w celu uzyskania wiarygodnych wyników, które następnie w dyskusji porównano w sposób krytyczny z tymi, które do tej pory uzyskali inni badacze.

Na podstawie bardzo dobrze zaprojektowanych i niezwykle starannie wykonanych badań Doktorantka scharakteryzowała zmiany epigenetyczne towarzyszące zahamowaniu aktywności PIM, wpływające na głębokie zaburzenia transkrypcji DLBCL. Przedstawione w dysertacji wyniki dają podstawę do dalszych badań przedklinicznych i klinicznych ukierunkowanych na wdrożenie nowej opcji terapeutycznej w DLBCL w wybranych kohortach pacjentów.

Reasumując, jest to bardzo dobrze wykonana, nowoczesna praca badawcza dająca ważne, praktyczne obserwacje dla naukowców i klinicystów zajmujących się pacjentami z DLBCL. Wykonana jest z użyciem dobrze wystandaryzowanych metod badawczych, gwarantujących rzetelność przedstawionych wniosków. W związku z powyższym Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych WUM przedkładam wniosek o dopuszczenie mgr Soni Marii Dębek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Rozprawa doktorska spełnia bowiem warunki określone w art. 187 Ustawy z dn. 20.07.2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). Z uwagi na nowatorski charakter badań, wysoką wartość poznawczą oraz staranność i kompleksowość opracowania, pragnę zwrócić się z prośbą o wyróżnienie pracy.

Z poważaniem,

Bogusław Machaliński