



Rec. pozytywna,
wniosek o wyróżnienie

Z-ca Przewodniczącej
Rady Dyscypliny Nauki Medyczne

prof. dr hab. Tomasz Grzybowski

UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Klinika Diabetologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
50-556 Wrocław, ul. Borowska 213
tel. 71 736-4000, fax 71 736 4009

Wrocław, 27. 11. 2024 r.

OPINIA O ROZPRAWIE NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH LEKARZA ŁUKASZA SZUKALSKIEGO

pt. „Analiza epigenetycznych modyfikacji DNA w leukocytach i moczu dorosłych pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML) oraz zespołami mielodysplastycznymi (MDS)”

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pt: „Analiza epigenetycznych modyfikacji DNA w leukocytach i moczu dorosłych pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML) oraz zespołami mielodysplastycznymi (MDS)” stanowi monografię. Jest to praca badawcza, koncentruje się na diagnostyce i leczeniu chorych z ostrymi białaczkami szpikowymi i zespołami mielodysplastycznymi, których rokrocznie diagnozujemy coraz więcej a niedalekiej przyszłości prawdopodobnie będzie to największa grupa chorych (MDS) na nowotwory hematologiczne.

We wstępie Autor przedstawił charakterystykę tej grupy schorzeń: omówił czynniki przyczyniające się do rozwoju tych nowotworów, epidemiologię, zmiany cytogenetyczno-molekularne, czynniki prognostyczne. Szczegółowo omówiono rolę procesów epigenetycznych, leczenie demetylujące oraz terapie celowane. Wstęp świadczy o dobrej znajomości tematu przez Doktoranta.

Cele pracy zostały jasno i przejrzysto sformułowane. Głównym celem badania była ocena procesów epigenetycznych u chorych dorosłych z AML oraz MDS, w tym analiza poziomów produktów aktywnej demetylacji w DNA leukocytarnym oraz stężeń tych produktów w moczu w porównaniu do grupy kontrolnej, analiza ekspresji mRNA genów zaangażowanych w procesy epigenetyczne i ich wpływ na szlak TET-TDG-BER-aktywnej demetylacji DNA oraz ocena częstości występowania mutacji genów epigenetycznych. Zaplanowano również ocenę wpływu wyjściowych poziomów produktów demetylacji w DNA leukocytarnym oraz stężeń tych produktów w moczu na dane kliniczne: ryzyko transformacji MDS do AML, odpowiedź na chemioterapię indukującą oraz długość życia pacjentów z AML.

Jeżeli chodzi o materiał i metody to do badania włączono 62 chorych z nieleczoną AML oraz 42 chorych z nieleczonym MDS. U wszystkich chorych oznaczano wartości produktów aktywnej demetylacji w DNA leukocytarnym oraz w moczu, a do analiz wykorzystano dedykowaną metodologię opartą o dwuwymiarową ultrasprawną chromatografię cieczową z tandemową spektrometrią mas (2D UPLC-MS/MS). Wykonano także pomiary ekspresji mRNA genów *TET1*, *TET2*, *TET3*, *TDG*, *IDH1* oraz *IDH2*. Uzyskane wyniki porównywano do grupy kontrolnej (n=52). U wszystkich chorych oznaczono również status mutacji genów *TET2*, *IDH1* oraz *IDH2*.

W wynikach badań Doktorant przedstawił bardzo ciekawe obserwacje: wykazano obniżenie poziomu 5-hmdC w DNA leukocytarnym chorych z AML względem grupy kontrolnej oraz chorych z MDS względem grupy kontrolnej. Najwyższe stężenia produktów aktywnej demetylacji w moczu odnotowano u chorych z AML, pośrednie u chorych z MDS, a najniższe w grupie kontrolnej. W grupie chorych z AML wykazano niższą niż w grupie kontrolnej ekspresję mRNA *TET2* i jednocześnie wyższą ekspresję mRNA *TET1*, *TET3*, *TDG* oraz *IDH1/2*. Stwierdzono obecność mutacji genetycznych u chorych z AML i MDS: *IDH1* odpowiednio u 3,23% i 2,4% chorych, *TET2* odpowiednio u 6,5% i 11,9% chorych oraz *IDH2* u 4,8% chorych z AML. Nie wykazano związku pomiędzy wartościami produktów demetylacji a odsetkiem odpowiedzi na chemioterapię intensywną u chorych z AML. Pacjenci z MDS, u których doszło do transformacji do AML mieli niższy wyjściowy poziom 5-mdC w DNA leukocytarnym niż chorzy, u których nie doszło do transformacji. Chorzy z AML z niskim wyjściowym stężeniem 5-mdC w moczu mieli dłuższe przeżycie całkowite, niż chorzy z wysokim stężeniem 5-mdC.

We wnioskach wykazano, że hipermetylacja wyrażona poprzez deplecję 5-hmdC jest cechą charakterystyczną AML oraz MDS. Dostarczono dowodów na to, że jedną z jej przyczyn może być obniżenie ekspresji mRNA genu *TET2*. Poprzez analizę stężeń produktów

demetylacji trafiających do moczu wykazano różnice w nasileniu zaburzeń epigenomu w badanych grupach: największe wśród chorych z AML, pośrednie wśród chorych z MDS oraz najniższe w grupie osób zdrowych. Poprzez wykazanie zwiększonej ekspresji mRNA *TDG* w grupie AML potwierdzono znaczne nasilenie procesów naprawczych zaburzeń metylacji przez TET-TDG-BER-zależną aktywną demetylację DNA. Dodatkowo dostarczono dowodów wspierających hipotezę zakładającą kompensacyjną funkcję genów *TET1* oraz *TET3* w odpowiedzi na deplecję *TET2* oraz ustalono częstość występowania mutacji epigenetycznych w populacji pacjentów z AML i MDS. Wyjściowa wartość produktów aktywnej demetylacji w DNA i w moczu nie miała wpływu na powodzenie chemioterapii indukującej u pacjentów z AML. Wyjściowy poziom 5-mdC w DNA leukocytarnym u chorych z MDS może mieć wartość prognostyczną w ocenie ryzyka transformacji do AML, a stężenie 5-mdC w moczu może wpływać na długość przeżycia całkowitego chorych z AML. Wnioski te powinny zostać potwierdzone na większej grupie pacjentów w analizie wieloczynnikowej.

Z roli recenzenta uważam, iż wnioski, opisane w pracy, można nieco przeredagować, gdyż część z nich jest powtórzeniem wyników badań, nie umniejsza to jednak w niczym jakości wykonanej pracy.

Reasumując, przedstawiona mi do opinii praca porusza ważne kwestie kliniczne dotyczące chorych z ostrą białaczką szpikową i zespołami mielodysplastycznymi. Ze względu na starzejące się społeczeństwo, ilość zachorowań, szczególnie na zespoły mielodysplastyczne, stale wzrasta, poprawiła się także diagnostyka oraz świadomość lekarzy, którzy coraz częściej rozpoznają te schorzenia. Materiał zawiera szeroko zakrojoną analizę wyników własnych obserwacji, dowodzi pracowitości i skrupulatności Doktoranta, umiejętności konfrontowania własnych wyników badań z wynikami wielu opublikowanych przez innych autorów publikacji. Uważam, iż przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2021 r. poz 478 ze zm).

Jednocześnie wnoszę do rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o wyróżnienie rozprawy.

Grzegorz Mazur

Prof. dr hab. n. med. Grzegorz Mazur

Katedra i Klinika Diabetologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Wewnętrznych

Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu