

## RECENZJA

**rozprawy na stopień doktora nauk medycznych mgr Mateusza Nowickiego pt. „Ocena wybranych elementów niszy szpikowej u pacjentów poddawanych autologicznemu przeszczepowi hematopoetycznych komórek macierzystych” wykonanej pod kierunkiem dr hab. n. med. Anny Szmigielskiej-Kapłon**

Na przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską składa się cykl trzech publikacji, w tym dwóch prac oryginalnych i jednej pracy poglądowej, w których Doktorant podjął się oceny wpływu wybranych elementów niszy szpikowej u pacjentów poddawanych przeszczepieniu autologicznych hematopoetycznych komórek macierzystych.

Celem pracy było zbadanie ekspresji i kinetyki cytokin i miRNA niszy szpikowej u pacjentów z nowotworami limfoproliferacyjnymi, poddawanych przeszczepieniu autologicznych hematopoetycznych komórek macierzystych, a także poszukiwanie korelacji pomiędzy ekspresją cytokin i miRNA a szybkością wszczepu (regeneracji neutrofilii) po auto-HSCT. W pracy badano ekspresję takich cytokin i proteaz regulujących angiogenezę i migrację hematopoetycznych komórek macierzystych, jak czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), angiopoetynę-1 (ANGPT1), angiopoetynę-2 (ANGPT2) oraz metaloproteinazę macierzy-9 (MMP-9). Do badanych miRNA należały: miRNA-15a, miRNA-16, miRNA-126, miRNA-146a oraz miRNA-223.

Projekt badawczy składał się z dwóch etapów. W pierwszym z nich oceniano ekspresję cytokin i proteaz metodą ELISA u 43 chorych na nowotwory układu chłonnego (33 pacjentów z MM, 8 z NHL i 2 z HL) w 5 punktach czasowych: przed chemioterapią kondycjonującą, w dniu autologicznego przeszczepienia (0) oraz w +7, +14 i +21 dobie po auto-HSCT oraz poszukiwano korelacji z liczbą dni potrzebnych do wszczepu. Uzyskane przez Doktoranta wyniki wskazują na zmniejszenie ekspresji VEGF, ANGPT1 i MMP-9 po chemioterapii kondycjonującej trwającej do +7 dnia po auto-HSCT w porównaniu do wartości ich stężeń przed chemioterapią. W przypadku VEGF, spadek ekspresji utrzymywał się do +14 dnia. Z kolei w odniesieniu do ekspresji ANGPT2, obserwowano jej spadek po leczeniu kondycjonującym, ale odnotowano dalszy wzrost od dnia +7. Ponadto stwierdzono dodatnie korelacje między poziomem ANGPT1 i MMP-9 w dniu +7 a liczbą dni potrzebnych do wszczepu, natomiast w przypadku ANGPT2 zaobserwowano ujemną korelację między jej stężeniem w dniu +7 a liczbą dni potrzebnych do wszczepu. Wyniki tych badań zostały

opublikowane w 2017 roku w *Annals of Hematology*, a Doktorant był pierwszym autorem pracy, jak również autorem korespondencyjnym.

W drugim etapie prac badawczych oceniono ekspresję wybranych miRNA u 51 chorych na nowotwory układu chłonnego (42 pacjentów z MM, 7 z NHL i 2 z H) w 4 punktach czasowych: przed chemioterapią kondycjonującą, w dniu autologicznego przeszczepienia (0) oraz w +7 i +14 dobie po auto-HSCT. Ekspresja miRNA była oceniana metodą real-time PCR. Dodatkowo u 24 chorych z grupy, w której oceniano miRNA, wykonano oznaczenia VEGF, ANGPT1, ANGPT2 i MMP-9. Doktorant dokonał następnie oceny korelacji pomiędzy ekspresją wybranych miRNA a liczbą krwinek białych i neutrofilii, liczbą dni koniecznych do wszczepu oraz ekspresją badanych cytokin i proteaz w poszczególnych punktach czasowych. Biorąc pod uwagę pierwszy i drugi etap projektu nasuwa się pytanie, czy pacjenci byli jednocześnie włączani do dwóch grup badawczych, tj. do grupy składającej się z 43 chorych i grupy liczącej 51 chorych? Uzpełnienia wymagałyby także informacja o czasie, w którym rekrutowano chorych do badania i kryteriach włączenia, tj. czy byli to wszyscy chorzy na nowotwory układu chłonnego, którzy otrzymali auto-HSCT w Klinice Hematologii UM w Łodzi w danym przedziale czasu, i którzy wyrazili zgodę na udział w badaniu, czy też stosowano jakieś kryteria wykluczające z badania, np. choroby zapalne czy autoimmunologiczne w wywiadzie. Na podkreślenie zasługuje fakt, że dla zrealizowania założonych celów pracy zastosowano nowoczesne techniki biologii molekularnej w tym metodę real-time PCR, co wymagało od Doktoranta praktycznego opanowania tych technik. Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowano stały spadek ekspresji wszystkich badanych miRNA po chemioterapii kondycjonującej i we wczesnym okresie po auto-HSCT w porównaniu do wartości wyjściowych. Stwierdzono, że wyższa ekspresja miRNA-15a, miRNA-16, miRNA-126 i miRNA-146a w dniu 0 korelowała z dłuższym czasem do uzyskania wszczepu. Dodatkowo, zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy poziomami miRNA-15a, miRNA-146a i miRNA-223 ocenianymi w dniu +7 a liczbą dni potrzebnych do wszczepu. Doktorant odnotował również dodatnią korelację pomiędzy ekspresją miRNA-16, miRNA-146a i miRNA-223 a stężeniem ANGPT1 i MMP-9 w dniu 0, jak również dodatnią korelację pomiędzy ekspresją w/w miRNA a stężeniem MMP-9 ocenianym w dniu +7. Ponadto wykazano dodatnią korelację między miRNA-15a, miRNA-16, miRNA-126 i miRNA-223 a stosunkiem ANGPT1/ANGPT2 w dniu 0. Wyniki tych badań zostały opublikowane w 2018 roku w *European Journal of Hematology*, a Doktorant był pierwszym autorem pracy, jak również autorem korespondencyjnym.

Na podstawie uzyskanych, w obu etapach pracy badawczej, wyników Doktorant przedstawił pięć wniosków odpowiadających założonym wcześniej celom pracy. Wnioski są wyważone i dobrze udokumentowane wynikami.

Reasumując uważam, że rozprawa doktorska mgr Mateusza Nowickiego spełnia ustawowe warunki stawiane pracom na stopień doktora nauk medycznych. Doktorant zrealizował założone cele pracy. Praca ma szereg aspektów poznawczych i może mieć implikacje kliniczne, jak również może stanowić podstawę do dalszych badań. Jestem przekonana, że praca doktorska mgr Matusza Nowickiego stanowi samodzielne rozwiązanie przez Niego ważnego problemu naukowego. Doktorant przy realizacji pracy wykazał się nie tylko praktyczną znajomością technik biologii molekularnej, ale również szeroką wiedzą teoretyczną z zakresu przedmiotu pracy, co odzwierciedla publikacja Jego pracy pogładowo-przeglądowej w czasopiśmie *Acta Haematologica Polonica* w 2018 r. Dlatego też mam zaszczyt przedstawić Radzie Naukowej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi recenzję pracy i prosić Wysoką Radę o dopuszczenie mgr Mateusza Nowickiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z uwagi na fakt, że wyniki badań Doktoranta zostały opublikowane w renomowanych czasopismach zagranicznych wnioskuję o uznanie przedstawionej pracy doktorskiej za wyróżniającą się.

Prof. dr hab. n. med.  
EWA LECH-MARAŃDA  
hematolog  
specjalista chorób wewnętrznych  
7050472