



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
KATEDRA I KLINIKA HEMATOLOGII
ul. Kopernika 17, 31-501 Kraków tel. 12 424 76 00, fax. 12 424 74 26

Recenzja pracy doktorskiej mgr Anny Madejczyk na temat: "Wpływ polimorficznych genów transporterów ABC oraz receptorów jądrowych PXR i CAR na ryzyko zachorowania i efekty leczenia inhibitorami kinazy tyrozynowej BCR-ABL1 u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową".

Przedstawiona do recenzji praca doktorska dotyczy ważnego problemu określenia czynników ryzyka dla zachorowania na przewlekłą białaczkę szpikową oraz próby poszukiwania molekularnych markerów odpowiedzialnych za skuteczność leczenia i pojawiającą się oporność na leczenie inhibitorami kinaz tyrozynowych tej choroby.

Dysertacja ma typowy układ chociaż umieszczenie na jej początku spisu publikacji i doniesień zjazdowych, w których doktorantka jest współautorem nie jest rozwiązaniem standardowym. Lista obejmuje 11 publikacji pełnotekstowych, z których jedna dotyczy przewlekłej białaczki szpikowej oraz 5 doniesień zjazdowych z których 4 dotyczą zagadnień poruszanych w pracy doktorskiej. Zawiera wykaz skrótów i symboli stosowanych w pracy, spis treści, wprowadzenie, założenia i cele pracy, metodykę, następnie wyniki wraz z ich podsumowaniem, dyskusję, podsumowanie, bibliografię, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel, rycin schematów i wykresów oraz suplement.

We wprowadzeniu doktorantka obszernie omawia charakterystykę etiopatogenetyczną – kliniczną przewlekłej białaczki szpikowej omawiając dokładnie mechanizmy molekularne leżące u podłoża powstania tej choroby. W kolejnym rozdziale omówione jest stosowane leczenie, w którym między innymi szeroko została przedstawiona charakterystyka imatynibu, dazatynibu oraz nilotynibu. W następnym rozdziale przedstawiono zjawisko oporności na IKT oraz znaczenie zmian polimorficznych pojedynczego nukleotydu w genach zaangażowanych w transport i metabolizm ksenobiotyków ze szczególnym uwzględnieniem genów kodujących białko ABCB1 i ABCG2, omówiono także funkcje receptorów jądrowych kodowanych przez PXR i CAR. Założenia i cele pracy zostały sformułowane jasno i przejrzysto. Materiał badawczy obejmował 257 pacjentów, z których do badania zakwalifikowano 248 pacjentów, u których zdiagnozowano i leczono PBSz w 5. ośrodkach hematologicznych w Polsce w latach 1993 – 2011. Grupę kontrolną stanowiły 223 osoby zdrowe (132 kobiety i 96 mężczyzn) w wieku 17-98 lat (mediana 65 lat), od których pobrano próbki krwi obwodowej celem genotypowania.

Wyniki przedstawiono w formie obszernych tabel i wykresów. Wyniki badania zmian polimorficznych nie wykazały ich wpływu na ryzyko zachorowania na PBSz, co może wiązać się ze zbyt małą mocą statystyczną. Obserwowano pewne trendy u nosicieli polimorfizmów w genie *ABCG2* i *CAR* omówione szczegółowo w Suplemencie. W części dotyczącej oceny wpływu polimorfizmów na skuteczność leczenia imatynibem zaobserwowano istotną statystycznie zależność między wystąpieniem SNP genu *CAR* i krótszym przeżyciem wolnym od niepowodzenia (FFS) co można uznać za najważniejszy z uzyskanych wyników. Pozostawał on bez wpływu na całkowite przeżycie (OS) i

przeżycie wolne od progresji (PFS). Uwidoczniono również zależność między płcią żeńską a występowaniem toksyczności hematologicznej 3 lub 4 stopnia. Odnotowano istotną statystycznie zależność pomiędzy występowaniem czterech SNP genu *ABCB1* oraz dwóch SNP genu *ABCG2* a szansą na uzyskanie całkowitej odpowiedzi cytogenetycznej oraz pomiędzy jednym z SNP genu *ABCB1* a wystąpieniem powikłań hematologicznych 3 lub 4 stopnia, a także między jednym z SNP genu *ABCG2* a wystąpieniem powikłań niehematologicznych podczas leczenia dazatynibem. Istotny statystycznie wpływ na OS miały dwa typy SNP w genie *ABCB1* (inne niż te istotne dla uzyskania CCyR po 12 miesiącach) oraz SNP w genach *CAR* i *PXR*. Podobnie, istotny wpływ na PFS miały SNP w genach *CAR* i *PXR* oraz dwa typy SNP (inne niż wpływające na poprzednio omawiane parametry) genu *ABCB1*.

W toku retrospektywnej analizy porównującej skuteczność dazatynibu i nilotynibu zaobserwowano, że leczenie dazatynibem oraz nietolerancja imatynibu jako powód zastosowania IKT 2 generacji wiąże się zarówno w analizie jedno- jak i wieloczynnikowej ze statystycznie istotnie większą szansą na osiągnięcie MMR po 12 i 18 miesiącach leczenia. Pozostałe czynniki wpływające na wydłużenie PFS zidentyfikowane w toku wykonanych badań to faz przewlekła i wiek < 60 lat. Dyskusja jest obszerna i dowodzi dobrej orientacji w zagadnieniu. Przedstawia w dojrzały sposób uzyskane wyniki na tle obserwacji poczynionych przez inne grupy badawcze. W suplemencie zamieszczono między innymi charakterystykę wybranych SNP oraz podsumowanie wyników analiz dotyczących potencjalnego wpływu badanych SNP na ryzyko zachorowania na PBSz, a także na skuteczność leczenia IKT, które nie uzyskały znamienności statystycznej.

Uwagi do wykazu stosowanych skrótów i symboli:

Czytelnik, który chciałby rozszyfrować nazwę genu lub białka tylko na podstawie wyjaśnienia w języku polskim napotkałby na pewne problemy; przykładowo skrót FAS wyjaśniony jest jako „powierzchniowy receptor”; W wielu innych miejscach objaśnienia skrótów w języku polskim są lapidarne i mało precyzyjne.

Uwagi do rozdziału „Wprowadzenie”

W Tabeli 1. wskazującej jak źródło European Leukemia Net zamieszczone są kryteria rozpoznania poszczególnych faz choroby, przy czym kryteria rozpoznania fazy przewlekłej obejmują wg autorki m.in. niedokrwistość, nasilone włóknienie kolagenowe i retikulinowe w trepanobiopsji oraz powiększenie śledziona. Każdy z tych objawów w fazie przewlekłej PBSz zdarza się rzadko i trudno uznać je za kryteria rozpoznania tej fazy choroby. Mam wrażenie, że kryteria te zostały zapożyczone z definicji innej choroby mieloproliferacyjnej i przez pomyłkę pojawiły się w tym miejscu. W Tabeli 1. znajdują się również błędy literowe. W Tabeli 2. Pojawia się informacja mówiąca, że białko hOCT1 jest transporterem dazatynibu. Powyższa informacja choć prawdziwa, powinna być opatrzona komentarzem, gdyż zarówno dane eksperymentalne jak i te uzyskane w badaniach in vivo wskazują że transport dazatynibu do komórek odbywa się głównie z pominięciem tego białka (jego zablokowanie nie wpływa istotnie na zdolność wnikania dazatynibu do komórek). Trudno zgodzić się z informacją pojawiającą się w rozdziale „1.2.5 Inhibitory BCR-ABL1 w fazie badań klinicznych”, gdzie bosutynib został zaliczonych do takich właśnie leków. Badania kliniczne nad tym lekiem wprawdzie trwają, ale preparat ten można rutynowo stosować w ramach obowiązującego w Polsce programu lekowego od marca 2018r.

Uwagi do rozdziału „Materiały i Metody”

W podrozdziale 3.3.2 pt: „Definicje punktów końcowych przyjętych w badaniu pozwalające ocenić skuteczność dazatynibu w PBSz po niepowodzeniu terapii imatynibem” umieszczono niezrozumiałe dla recenzenta zdanie: „Z tej kategorii wyłączono chorych, u których przeszczepiono szpik kostny przed włączeniem imatynibu”. Czy zdanie to nie powinno pojawić się w innym miejscu pracy?

Uwagi do rozdziału „Wyniki”

W pierwszym akapicie doktorantka wymienia, że spośród 248 pacjentów zakwalifikowanych do badania, w chwili diagnozy fazę przewlekłą rozpoznano u 228, fazę akceleracji u 18, a fazę kryzy blastycznej u 2 pacjentów, tymczasem w rozdziale „Materiały i Metody” doktorantka jako kryteria kwalifikujące do badań uznaje rozpoznanie PBSz w fazie przewlekłej lub akceleracji. W podpisach pod wykresami w określeniu długości obserwacji doktorantka używa liczbę dni, co przy wartościach oscylujących między 1000 a 4000 sugerowałbym, aby dla czytelności zostało zamienione np. na miesiące. Na stronie 100 w tytule rozdziału 4.5 pojawia się po raz pierwszy skrót tSNP, który nie jest nigdzie wyjaśniony. Doktorantka używa tego skrótu jeszcze kilkakrotnie w swojej pracy; wymaga to wyjaśnienia. Myślę, że w którymś fragmencie pracy warto byłoby wytłumaczyć powody, dla których nie zaplanowano analizy wpływu SNP na oceniane w dysertacji parametry u chorych leczonych nilotynibem, zwłaszcza, że rozdział 4.9 jest poświęcony porównaniu skuteczności obu inhibitorów drugiej generacji w toku retrospektywnej analizy. W części poświęconej retrospektywnemu porównaniu skuteczności dazatynibu i nilotynibu zabrakło pełnej charakterystyki pacjentów w chwili rozpoczęcia leczenia drugiej linii (np. stopnia odpowiedzi na leczenie w tym punkcie czasowym).

Podsumowanie:

Praca obejmuje zagadnienia z zakresu farmakogenetyki, która może odgrywać kolosalne znaczenie w determinowaniu odpowiedzi poszczególnych chorych na stosowane leczenie i jest dziedziną wciąż zbyt mało w Polsce eksplorowaną. Tym bardziej należy wyrazić uznanie dla oryginalnego pomysłu ocenianej pracy i fakt przeprowadzenia pierwszego w Polsce badania polimorfizmów genów ABCB1, ABCG2, PXR i CAR na tak dużą skalę. Należy podkreślić, że doktorantce udało się stworzyć projekt badań wielośrodkowych, dokonać kolekcji materiału pobieranego w 5. jednostkach uczestniczących, stworzyć i uzupełnić bazę danych klinicznych, dzięki współpracy z German Cancer Research Center w Heidelbergu przeprowadzić zaplanowane analizy, a następnie wyciągnąć uprawnione wnioski z wykonanych badań. Możliwość sformułowania powyższych wniosków świadczy o osiągnięciu zakładanych w pracy celów.

Dysertacja w moim przekonaniu mimo sformułowanych uwag spełnia wymogi stawiane przed tego typu opracowaniami i pozwala na przedłożenie mojej pozytywnej oceny i rekomendacji nadania biegu dalszym etapom przewodu doktorskiego mgr Anny Madejczyk.

Jednocześnie składam wniosek o wyróżnienie powyższej pracy, gdyż jest realizacją oryginalnego pomysłu i stanowi efekt rzetelnie przeprowadzonych badań naukowych dotyczących niezwykle ważnego problemu klinicznego dotyczącego wielu chorych na PBSz leczonych inhibitorami kinazy tyrozynowych. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem nowoczesnej metodologii, a wnioski płynące z całości opracowania inspirują do dalszych badań na większych grupach pacjentów.

Z poważaniem



Dr hab. med. Tomasz Sacha prof. UJ

Prof. UJ, dr hab. med. Tomasz Sacha
lekarz
Specjalista chorób wewnętrznych
Specjalista hematolog
2624828 980610876
tel. 602 51 69 24