

Białystok 15.04.2020

Dr hab. Małgorzata Rusak

Zakład Diagnostyki Hematologicznej

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr analityki medycznej Dągmary Szmajdy-Krygier
pt.: „Ekspresja i polimorfizmy genów RUNX1, RUNX3 i CEBPA
w ostrej białaczce limfoblastycznej”**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska pt.: „Ekspresja i polimorfizmy genów RUNX1, RUNX3 i CEBPA w ostrej białaczce limfoblastycznej” została wykonana w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. dr hab. n. farm. Ewy Balcerczak oraz dr n. farm. Marty Żebrowskiej-Nawrockiej

Ostre białaczki limfoblastyczne (ang. *acute lymphoblastic leukemia*) są heterogenną grupą chorób układu białokrwinkowego. Dotychczas określono wiele czynników biologicznych i klinicznych o znaczeniu prognostycznym, jednak nadal poszukuje się nowych, bardziej doskonałych. Dzięki opracowaniu, w latach 80-tych ubiegłego wieku przez Kary'ego Mullisa i współpracowników z kalifornijskiej firmy Cetus, techniki PCR (ang. *polymerase chain reaction*), coraz dokładniej poznajemy i rozumiemy biologię ostrej białaczki limfoblastycznej, a tym samym rozwijamy nowe terapie oparte o precyzyjne przyporządkowanie pacjentów do grup ryzyka.

Metoda PCR i jej modyfikacje oparte na analizie DNA i RNA umożliwiają m.in. ocenę genów, które kodują czynniki transkrypcyjne i są zaangażowane w procesy hematopoezy, apoptozy i proliferacji. Taki właśnie cel postawiła sobie w recenzowanej pracy doktorskiej mgr analityki medycznej Dągmara Szmajda-Krygier. Wykorzystując technikę PCR-RFLP Doktorantka oceniła polimorfizmy genu *RUNX1* rs2268277 i *RUNX3* rs6672420. Za pomocą techniki RT-qPCR Autorka zbadała względne poziomy ekspresji genów *RUNX1*, *RUNX3* oraz *CEBPA*,

natomiast za pomocą sondy typu TaqMan oceniła obecność ekspresji genu fuzyjnego *RUNX1/RUNX1T1*.

Praca doktorska mgr Dąmmary Szmajdy-Krygier jest 140-stronicowym opracowaniem zawierającym 45 rycin oraz 43 tabele, o typowym układzie dla rozpraw doktorskich. Praca rozpoczyna się wykazem skrótów, poprzedzonym stroną tytułową, po nich jest spis treści, wstęp oraz założenia i cel pracy. W dalszej części, dzieło zawiera następujące rozdziały: materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo, spis tabel i rycin. Piśmiennictwo obejmuje 141 pozycji, trafnie dobranych do tematu rozprawy, i w przeważającej części opublikowanych w ostatnich 10 latach.

We wstępie można wyróżnić dwie części. Pierwsza część poświęcona jest zagadnieniom związanym z ostrą białaczką limfoblastyczną, gdzie w sposób syntetyczny Autorka przybliżyła jej epidemiologię, patogenezę, klasyfikację, a także opisuje badania, które są konieczne do rozpoznania tego nowotworu. Tą część wstępu Doktorantka kończy omówieniem czynników prognostycznych i metod leczenia tego nowotworu. Druga część to opis rodziny genów RUNX i CEBPA oraz ich produktów białkowych. Cały wstęp jest napisany bardzo poprawnie, językiem zwięzłym i konkretnym. Stanowi idealne uzasadnienie dla podjęcia przeprowadzonych badań, chociaż zabrakło mi wyodrębnionego podrozdziału, który połączyłby pierwszą część wstępu z drugą.

Główne założenia rozprawy doktorskiej są omówione w sześciu szczegółowych celach co uporządkowało prace i zapewne usprawniło realizację badań. W celu pracy szczególną uwagę zwrócono na bardzo ważny aspekt, mianowicie ustalenie czynników wpływających na leukemogenezę, której nieprawidłowy przebieg może być powodem rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej. Zmiany w tym procesie mogą zostać wywołane przez niewielką zmianę w ekspresji lub funkcji niektórych czynników transkrypcyjnych, m.in. białek kodowanych przez geny z rodziny RUNX oraz gen CEBPA.

Kolejnym rozdziałem przedstawionym w dysertacji są „Materiał i metody”, gdzie bardzo rzetelnie opisano materiał do badań pochodzący od pacjentów z zdiagnozowaną ostrą białaczką limfoblastyczną. Niestety w przypadku dodatkowej grupy odniesienia, praktycznie nie podano żadnych informacji (poza liczebnością), charakteryzujących tę grupę. Opis metodyki i przeprowadzonych procedur jest bardzo dokładny i rzetelny, co wskazuje na samodzielność Doktorantki i świadomy wybór wiarygodnych technik badawczych.

Dowiadujemy się wielu szczegółów o reakcji łańcuchowej reakcji polimerazy PCR i jej odmianach czyli: PCR-RFLP, dzięki której Autorka oceniła polimorfizmy genu RUNX1 rs2268277 i RUNX3 rs6672420; RT-qPCR, umożliwiła ocenę względnych poziomów ekspresji genów RUNX1, RUNX3 oraz CEBPA, oraz zastosowaniu sondy typu TaqMan do stwierdzenia obecności ekspresji genu fuzyjnego RUNX1/RUNX1T1.

Po wyczerpujących informacjach na temat metod następuje podrozdział opisujący analizę statystyczną, po której przechodzimy do 40-stronicowego rozdziału „Wyniki”. Otrzymane wyniki badań zostały bardzo dobrze udokumentowane. Mamy tu do dyspozycji 28 tabel, 30 rycin i wykresów obrazujących, m.in. wykres częstości występowania poszczególnych genotypów w grupie badanej i grupie kontrolnej, wynik elektroforezy produktów PCR dla ocenianych genów, krzywe amplifikacji dla badanych genów, krzywe topnienia produktów reakcji dla ocenianych genów, czy wykres korelacji r Pearsona między względnym poziomem ekspresji ocenianych genów a wiekiem, leukocytozą, odsetkiem komórek blastycznych.

Kolejny rozdział to dyskusja, w której w sposób rzeczowy Autorka konfrontuje swoje wyniki z doniesieniami innych autorów oraz wskazuje potencjalne kierunki kontynuowania badań. Świadczy to o jej dużej wiedzy dotyczącej omawianej tematyki jak i umiejętności korzystania z dostępnej literatury fachowej, co stanowi dobre przygotowanie do pracy naukowej. Na podstawie swoich badań Doktorantka formułuje w rozdziale VIII sześć wniosków. Odpowiadają one celom pracy i mogą być istotne pod względem naukowym, czy klinicznym. Mogłyby być jednak zredagowane w sposób, który pozwoliłby na wyciągnięcie bardziej konstruktywnych wniosków. Analiza osiągniętych wyników zawartych w streszczeniu stanowi lepsze podsumowanie pracy niż sformułowania zawarte w rozdziale VIII. Całość dzieła zamyka streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwem.

Dorobek naukowy Doktorantki stanowi 6 publikacji, z czego w trzech jest pierwszym autorem, o łącznym IF 7,989 i punktacji MNiSW: 247. Wyniki prac badawczych zostały również zaprezentowane na konferencjach i kongresach krajowych, na których Doktorantka otrzymywała wyróżnienia i nagrody.



Podsumowując, pragnę podkreślić że miałam możliwość recenzowania dobrej pracy doktorskiej. Praca została przygotowana w sposób właściwy, a nieliczne błędy nie wpływają na jej ostateczną, wysoką ocenę. Oceniana rozprawa doktorska jednoznacznie świadczy o przygotowaniu merytorycznym i biegłości warsztatowej Doktorantki.

Z przyjemnością stwierdzam, że praca mgr analityki medycznej Dagmary Szmajdy-Krygier pt.: „Ekspresja i polimorfizmy genów RUNX1, RUNX3 i CEBPA w ostrej białaczce limfoblastycznej” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Małgorzata Rusak
01091
DIAGNOSTA LABORATORYJNY
specjalista laboratoryjnej diagnostyki medycznej